



ผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันต่อนิวเคลียร์แฟคเตอร์แคปปาบีและพรอสตาแกลนดินอี 2
ของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ในสภาวะน้ำตาลสูง

EFFECTS OF CURCUMA LONGA CRUDE EXTRACT ON NF- κ B AND PGE2 IN
LPS-STIMULATED HUMAN GINGIVAL FIBROBLAST IN HIGH GLUCOSE CONDITION

สุทธิธร ญาณรังสี

ผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันต่อนิวเคลียร์แฟกเตอร์แคปปาบีและพรอสตาแกลนดินอี 2
ของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ในสภาวะน้ำตาลสูง



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

EFFECTS OF CURCUMA LONGA CRUDE EXTRACT ON NF- κ B AND PGE2 IN
LPS-STIMULATED HUMAN GINGIVAL FIBROBLAST IN HIGH GLUCOSE CONDITION



SUTITORN YANARANCI

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF SCIENCE

(Clinical Dentistry)

Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

2021

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันต่อนิวเคลียร์แฟคเตอร์แคปปาบีและพรอสตาแกลนดินอี 2
ของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ในสภาวะน้ำตาลสูง

ของ

สุทธิธร ญาณรังสี

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน) (รองศาสตราจารย์ ดร.ดุษฎี หอมดี)

..... ที่ปรึกษาร่วม กรรมการ
(อาจารย์ ดร.พริมา บุญณสิน) (อาจารย์ ดร.รุ่งทิพา ศรีสุวรรณทนา)

ชื่อเรื่อง	ผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันต่อนิวเคลียร์แฟคเตอร์แคปปาบีและพรอสตาแกลนดินอี 2 ของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ในสภาวะน้ำตาลสูง
ผู้วิจัย	สุทธิธร ญาณรังสี
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2564
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. พริมา บุญณลิน

มีการศึกษาในเซลล์หลายชนิดที่พบว่าสารสกัดเคอร์คิวมินจากขมิ้นชันสามารถกดการอักเสบผ่านการยับยั้งการทำงานของวิถีการส่งสัญญาณนิวเคลียร์แฟคเตอร์แคปปาบี (NF-κB) ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมการหลั่งของสารเหนี่ยวนำการอักเสบ (Inflammatory mediators) มากมาย เช่น พรอสตาแกลนดินอี 2 (PGE2) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการอักเสบและการทำลายเนื้อเยื่อในโรคปริทันต์อักเสบและโรคเบาหวาน จึงเป็นที่มาของศึกษาผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันที่สกัดด้วยเอทานอล ต่อ NF-κB และ PGE2 ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ (Human gingival fibroblasts; HGFs) โดยใช้ไลโปโพลีแซคคาไรด์ (LPS) ของเชื้อพอร์ไฟโรโมนัส จิงจิ วาลิส (*Porphyromonas gingivalis*; Pg) เพื่อกระตุ้นการอักเสบ โดย HGFs จะถูกเลี้ยงภายใต้สภาวะน้ำตาลปกติ (5.5 มิลลิโมลาร์) หรือน้ำตาลสูง (50 มิลลิโมลาร์) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นเลี้ยงต่อ 24 ชั่วโมงในสภาวะที่มีหรือไม่มี LPS 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับสภาวะมีหรือไม่มีขมิ้น 15 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นเซลล์จะถูกนำมาทดสอบ MTT เพื่อวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ หรือนำมาวิเคราะห์การแสดงออกของยีน NF-κB ด้วย Real-time PCR ในขณะที่น้ำเลี้ยงเซลล์จะถูกวิเคราะห์ด้วย ELISA เพื่อหาปริมาณของ PGE2 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบขมิ้นชันไม่เป็นพิษต่อเซลล์ การแสดงออกของ NF-κB ลดลงในทุกกลุ่มทดลอง โดยมีเพียงกลุ่มน้ำตาลปกติที่ได้รับขมิ้นชันที่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ขมิ้นชันไม่สามารถลดปริมาณ PGE2 ได้ จึงสรุปได้ว่า สารสกัดหยาบขมิ้นชันสามารถลดการแสดงออกของ NF-κB ในภาวะน้ำตาลปกติ แต่ไม่สามารถลดระดับ PGE2 ได้

คำสำคัญ : สารสกัดหยาบขมิ้นชัน, เคอร์คิวมิน, โรคปริทันต์อักเสบ, โรคเบาหวาน, นิวเคลียร์แฟคเตอร์แคปปาบี, พรอสตาแกลนดินอี 2

Title	EFFECTS OF CURCUMA LONGA CRUDE EXTRACT ON NF-kB AND PGE2 IN LPS-STIMULATED HUMAN GINGIVAL FIBROBLAST IN HIGH GLUCOSE CONDITION
Author	SUTITORN YANARANCI
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2021
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Narongsak Laosrisin
Co Advisor	Dr. Prima Buranasin

The nuclear factor kappa B (NF-kB) is a transcription factor that is responsible for regulating the secretion of many inflammatory mediators, such as prostaglandin E2 (PGE2), which plays an important role in inflammation and tissue damage in periodontitis and diabetes. Several studies have found that the curcumin extract from *Curcuma longa* (turmeric) can suppress inflammation through the inhibition of the NF-kB signaling pathway. Therefore, the effects of ethanolic crude extract of *Curcuma longa* on NF-kB and PGE2 were studied in human gingival fibroblasts (HGFs), stimulated to be inflamed by lipopolysaccharide (LPS) of *Porphyromonas gingivalis* (Pg). Accordingly, HGFs were cultured under normal (5.5 mM; NG) or high glucose (50 mM; HG) for 72 h, then cultured with or without 1 µg/ml LPS along with or without 15 µg/ml turmeric for 24 h. Culture media was then collected for the PGE2 ELISA test. The cells were collected for either an MTT assay to analyze cell viability or Real-time PCR to quantify NF-kB expression. The results revealed that turmeric is not toxic to cells. NF-kB expression decreased in all experimental groups. Only the NG group with turmeric showed a significant reduction. While turmeric was unable to reduce PGE2 level. In conclusion, *Curcuma longa* crude extract was able to reduce NF-kB expression in NG condition but not able to reduce PGE2 secretion.

Keyword : *Curcuma Longa* Crude Extract, Turmeric, Periodontitis, Diabetes Mellitus, Nuclear factor kappa B, Prostaglandin E2

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ทพ. ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ ดร.ทพญ.พริมา บุณณสิน อาจารย์ที่ปรึกษารอง ที่ให้ความกรุณาดูแลด้วยความเอาใจใส่อย่างใกล้ชิดตลอดมา จนทำให้การทำปริญญานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี อีกทั้งยังได้ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชา จนสามารถสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาโท

ขอขอบพระคุณ อ.ดร.ทพญ.รุ่งทิพา ศรีสุวรรณธนา และ อ.ทพญ.จามรี เสมา สำหรับคำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งรวมถึงความเอื้อเฟื้อด้านอุปกรณ์ และกำลังใจที่มีให้แก่ผู้วิจัยตั้งแต่ผู้วิจัยเป็นเพียงนิสิตทันตแพทย์จนสำเร็จปริญญาโท

ขอขอบพระคุณสถาบันคั่นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการสนับสนุนสารสกัดขมิ้นชัน ขอขอบคุณ คณะทันตแพทยศาสตร์ และสถาบันยุทธศาสตร์ทางปัญญาและวิจัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สำหรับทุนสนับสนุน

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ทพญ.มานิสา ศรีชลเพชร หัวหน้าภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก และ ธนวัฒน์ มหัทธชัยพงษ์ นิสิตปริญญาโทภาควิชาศัลยศาสตร์ สำหรับความเอื้อเฟื้อในการหยิบยืมอุปกรณ์และคำแนะนำที่มีประโยชน์อย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ และ จนิษฐา ชูเลิศ นิสิตปริญญาเอกคณะวิทยาศาสตร์ สำหรับความเอื้อเฟื้อในการหยิบยืมอุปกรณ์เป็นกรณีพิเศษ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ทพ.ณัฐวุธ แก้วสุทธา คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์ รศ.ดร.นันทนา อรุณฤกษ์ หัวหน้าภาคโอบุสสุวิทยา และ อ.ดร.ดวงพร ศรีสุภาพ สำหรับคำแนะนำและการเอื้อเฟื้อสถานที่เป็นกรณีพิเศษ ในช่วงที่มีมาตรการจำกัดการเข้าออกของบุคลากร

ขอขอบพระคุณ ศิริพงศ์ ตั้งประเสริฐกิจ (นักวิทยาศาสตร์) และ วรณีย์ ผลสมหวัง (พนักงานประจำห้องปฏิบัติการ) สำหรับคำแนะนำและความเอื้อเฟื้อด้านการจัดการอุปกรณ์

ขอขอบพระคุณเพื่อนร่วมสาขา กมนพร บุญยฤทธิ์ และ รพีพรณ นະภິใจ ที่ร่วมกันฝ่าฟันอุปสรรค และเป็นกำลังใจให้กันจนปริญญานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณพ่อแม่ครูบาอาจารย์รวมทั้งทุกคนที่มีส่วนเกี่ยวข้อง ขออาราธนาคุณพระรัตนตรัยเพื่ออวยพรแก่ทุกคนไม่ว่าจะมีหรือไม่มีชื่อ ณ ที่นี้ก็ตาม

สุทธิธร ญาณรังสี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	7
ความสำคัญของการวิจัย	7
ขอบเขตของการวิจัย	7
ประชากรที่ใช้ในการวิจัย.....	7
กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย.....	7
ตัวแปรที่ศึกษา	8
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	8
กรอบแนวคิดในงานวิจัย.....	9
สมมุติฐานในการวิจัย.....	9
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	10
ขมื่นชั้น	10
ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของขมื่นชั้น.....	10
องค์ประกอบทางเคมีของขมื่นชั้น	12

องค์ประกอบสำคัญของขมิ้นชันที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา.....	13
การใช้ขมิ้นชันในการแพทย์ทางเลือกของไทย	14
ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของขมิ้นชัน.....	16
โรคเบาหวาน	21
ประเภทของโรคเบาหวาน	21
อุบัติการณ์ของโรคเบาหวานในประเทศไทย	22
อุบัติการณ์ของโรคเบาหวานทั่วโลก	23
โรคปริทันต์อักเสบ	24
ความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบและโรคเบาหวาน	25
นิวเคลียร์แฟกเตอร์แคปปาบี (NF- κ B)	32
พรอสตาแกลนดินอี 2 (PGE2)	34
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	37
การกำหนดประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง.....	37
ประชากร	37
การเลือกกลุ่มตัวอย่าง	37
การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	38
วิธีการหาคุณภาพเครื่องมือ	42
การวิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดยาขมิ้นชัน (Dose-response analysis)	42
การทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ด้วย MTT assay	43
การเลี้ยงเซลล์เพื่อวิเคราะห์ NF- κ B และ PGE2	43
การวิเคราะห์การแสดงออกของ NF- κ B ด้วย RT-PCR	43
การวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PGE2 ด้วย ELISA	46
การเก็บรวบรวมข้อมูล	47

การจัดกระทำข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล	48
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย	49
ผลการวิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดหยาบไขมันชั้นด้วย MTT assay	50
ผลการวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ด้วย MTT assay	51
ผลการวิเคราะห์การแสดงออกของ NF-kB ด้วย RT-PCR.....	52
ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PGE2 ด้วย ELISA.....	53
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	54
อภิปรายผลการวิจัย	54
สรุปผลการวิจัย.....	58
ข้อเสนอแนะ	58
บรรณานุกรม	59
ประวัติผู้เขียน.....	74

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 การจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์ของไขมันชั้น ^(46, 47)	10
ตาราง 2 แสดงข้อมูลทางโภชนาการของไขมันชั้นปริมาณ 100 กรัม เทียบกับร้อยละของปริมาณที่ควรได้รับต่อวัน ^(51, 52)	12
ตาราง 3 จำนวนและอัตราผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวาน (:100,000) ปี พ.ศ. 2559-2561 ของประเทศไทยและกรุงเทพฯ ⁽⁸⁷⁾	22
ตาราง 4 จำนวนและอัตราการตายด้วยโรคเบาหวาน (:100,000) ปี พ.ศ. 2559-2561 ของประเทศไทยและกรุงเทพฯ ⁽⁸⁸⁾	22
ตาราง 5 การจัดอันดับความสูญเสียสุขภาพของประชากรไทย (DALY) พ.ศ. 2557 ⁽¹⁰⁴⁾	23
ตาราง 6 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์ในการวิเคราะห์ด้วย PCR	45

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 ผลของระดับน้ำตาลในเลือดสูงที่มีต่อภาวะแทรกซ้อนในโรคเบาหวานผ่านทาง การทำงานของวิถีการส่งสัญญาณ NF-kB และ JNKs ⁽¹³⁾	3
ภาพประกอบ 2 ตัวกระตุ้น โมเลกุลส่งสัญญาณ และผลิตภัณฑ์ในกระบวนการอักเสบที่เกิดจาก การกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ NF-kB ⁽¹⁹⁾	4
ภาพประกอบ 3 ภาพแสดงเหง้าของไขมันชั้น ⁽⁵⁰⁾	11
ภาพประกอบ 4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเคอร์คิวมินและอนุพันธ์ของเคอร์คิวมิน ⁽⁵⁵⁾	13
ภาพประกอบ 5 โครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยของพืชในสกุลขมิ้น ⁽⁵⁷⁾ ..	14
ภาพประกอบ 6 กลไกการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ ⁽⁹²⁾	24
ภาพประกอบ 7 โมเลกุลส่งสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับปฏิสัมพันธ์ระหว่าง AGEs-RAGE ⁽¹⁰²⁾	26
ภาพประกอบ 8 กลไกที่สารอักเสบในโรคปริทันต์อักเสบอาจมีผลต่อการดื้อต่ออินซูลิน ⁽¹⁰⁷⁾	27
ภาพประกอบ 9 แสดงการทำงานของวิถีการส่งสัญญาณ NF-kB และการยับยั้งการก่อตัวของ IKK complex และ IKK α dimer ของเคอร์คิวมิน ⁽¹⁸⁾	33
ภาพประกอบ 10 ขั้นตอนการสกัดสารสกัดหยาบไขมันชั้น	38
ภาพประกอบ 11 ผลการวิเคราะห์โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงของ เคอร์คิวมิน, ดิเมท็อกซี เคอร์คิวมิน และบิสดีเมท็อกซีเคอร์คิวมิน	39
ภาพประกอบ 12 แสดงผลการวิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดหยาบไขมันชั้น ที่ระดับความ เชื่อมั่น 95% (*P-value < 0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม	50
ภาพประกอบ 13 แสดงผลการวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ ที่ความเชื่อมั่น 95% (*P-value < 0.05)	51
ภาพประกอบ 14 แสดงผลการวิเคราะห์การแสดงออกของ NF-kB ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (*P-value < 0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมภาวะปกติ (NG)	52

ภาพประกอบ 15 แสดงการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PGE2 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (*P-value < 0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมภาวะปกติ (NG)	53
ภาพประกอบ 16 กราฟความมีชีวิตของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์รุ่นที่ 1-6	56



บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าถิ่นกำเนิดของขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linnaeus) อยู่ที่ไหน แต่สันนิษฐานว่ามีต้นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งสามารถพบพืชในสกุลขมิ้นได้ทั่วไป โดยที่ขมิ้นชันได้รับการเพาะพันธุ์และบริโภคมากที่สุดในประเทศอินเดีย ตามมาด้วย บังกลาเทศ จีน ไทย เขมร มาเลเซีย อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์⁽¹⁾

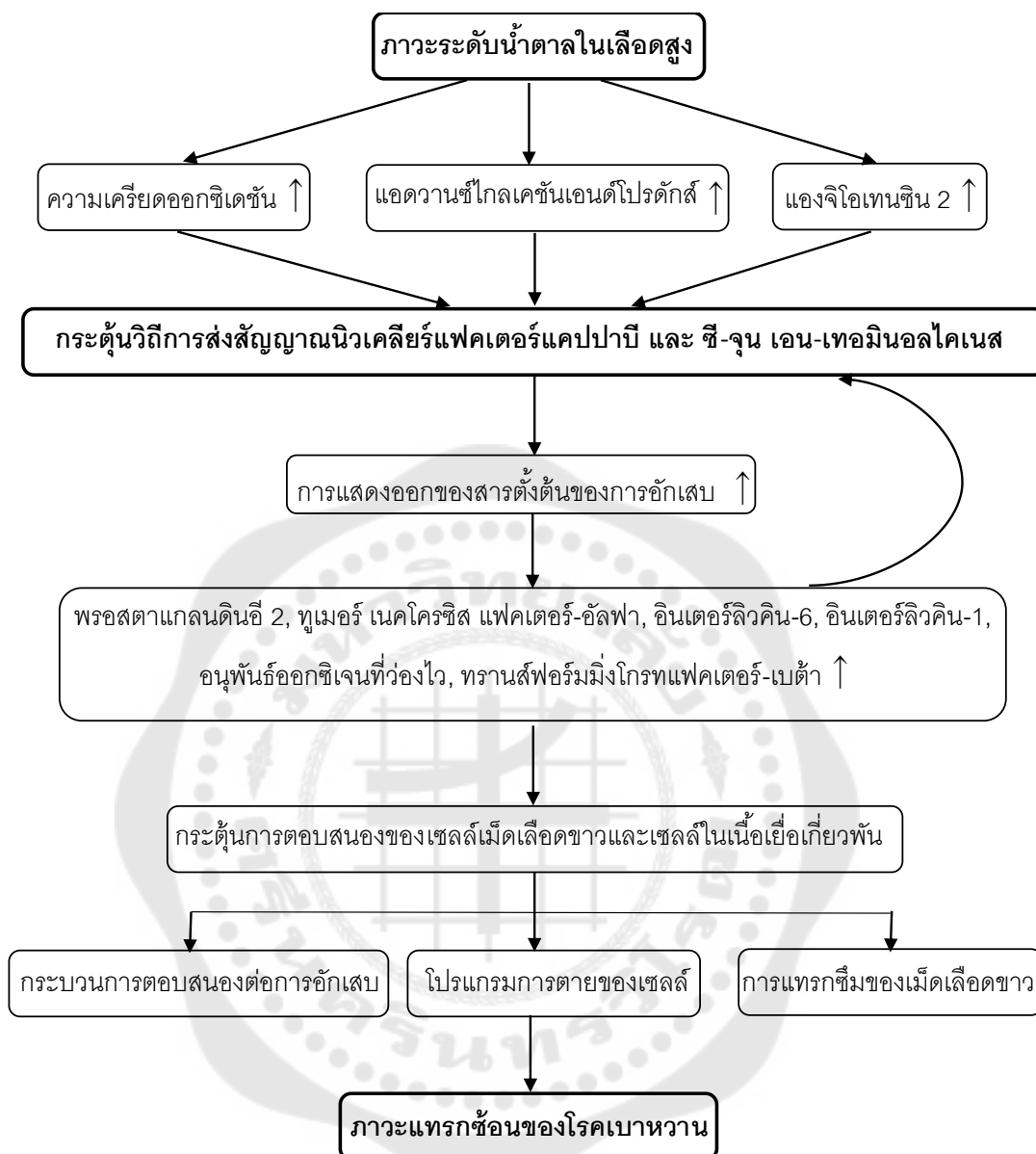
จากรายงานการวิจัยหลายฉบับพบว่าขมิ้นชันมีประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยาอย่างมาก และแม้ว่าองค์ประกอบหลาย ๆ อย่างในขมิ้นจะมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาแต่เชื่อว่าเคอร์คิวมินอยด์ (Curcuminoid) และน้ำมันหอมระเหย (Essential oil) เป็นสารออกฤทธิ์หลักโดยที่เคอร์คิวมิน (Curcumin) มีปริมาณมากที่สุดและมีฤทธิ์โดดเด่นที่สุดในสารกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์^(2, 3) และเชื่อว่าเป็นสารที่ทำให้ขมิ้นชันมีฤทธิ์ในการต้าน การอักเสบ อนุมูลอิสระ การติดเชื้อแบคทีเรีย การติดเชื้อรา การติดเชื้อไวรัส และการเกิดเนื้องอกได้⁽⁴⁾ ซึ่งจากคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ขมิ้นชันเป็นยาที่ถูกใช้ในการแพทย์ทางเลือกอย่างแพร่หลาย ในรูปแบบของการนำเหง้าขมิ้นชันมาตากแห้ง และบดเป็นผง⁽⁵⁾ อาจใช้ในรูปแบบยารับประทานหรือยาใช้ภายนอก โดยได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในประเทศแถบเอเชียโดยเฉพาะใน อินเดีย จีน และไทย เพื่อรักษาโรคและภาวะต่าง ๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคผิวหนัง โรคทางระบบทางเดินหายใจ โรคตับ โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ และโรคในระบบทางเดินอาหาร หรือถูกใช้รูปแบบยาทาเพื่อป้องกันการติดเชื้อเมื่อเกิด แผลพุพอง แผลฟกช้ำ หรือแผลสด^(5, 6)

จากการศึกษาทางชีวโมเลกุลพบว่าเคอร์คิวมินมีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนในเซลล์หลายชนิด ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและความอยู่รอดของเซลล์ เช่น นิวเคลียร์แฟกเตอร์แคปปาบี (Nuclear factor kappa B: NF- κ B), พรอสตาแกลนดินอี 2 (Prostaglandin E2: PGE2), อินเตอร์ลิวคิน 1 เบต้า (Interleukin 1 beta: IL-1 β) ทูเมอร์ เนโครซิส แฟกเตอร์-อัลฟา (Tumor necrosis factor alpha: TNF- α) และไนตริกออกไซด์ซินเทส (Nitric oxide synthase: NOS) ทำให้เคอร์คิวมินสามารถเปลี่ยนวิถีการส่งสัญญาณระหว่างเซลล์ (Cell signaling pathway) ซึ่งสัมพันธ์กับโรคเรื้อรังหลายชนิดรวมไปถึงโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ⁽⁷⁻¹⁰⁾

โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus: DM) เป็นโรคเรื้อรังซึ่งเป็นภาวะความผิดปกติของการเผาผลาญที่ทำให้เกิดสภาวะน้ำตาลในเลือดสูง โดยใช้เกณฑ์ระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร (Fasting blood sugar: FBS) ที่ 8 ชั่วโมงสูงกว่าหรือเท่ากับ 126 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร⁽¹¹⁾

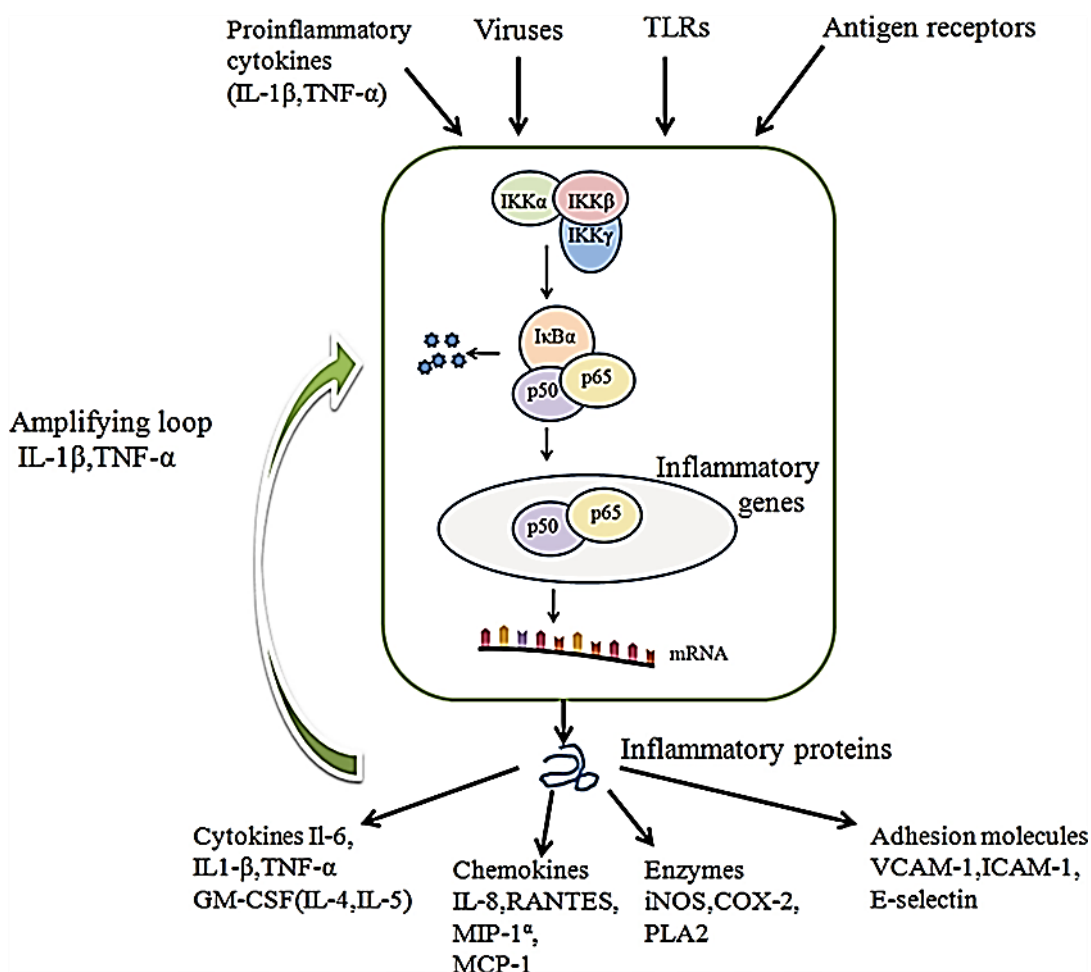
โรคเบาหวานเป็นปัญหาสำคัญของระบบสาธารณสุขทั้งในประเทศไทยและทั่วโลกที่พบแนวโน้มของอัตราการเกิดโรคเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ทุกปี เนื่องจากวิถีชีวิตและพฤติกรรมของผู้ป่วย สามารถส่งผลต่อสภาวะของโรคและการพยากรณ์โรค ทำให้การควบคุมโรคเป็นไปได้ยาก⁽¹²⁾ โดยการอักเสบถือเป็นกระบวนการสำคัญในการลุกลามและการเกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน ซึ่งมีหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงจะเพิ่มการสะสมของ ความเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress), แอดวานซ์ไกลเคชันเอนด์โปรดักส์ (Advanced glycation end products: AGEs) และแองจิโอเทนซิน 2 (Angiotensin 2) ซึ่งสามารถกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ NF- κ B และซี-จุน เอน-เทอมินอลไคเนส (C-Jun N-terminal kinases: JNKs) ที่มีผลเพิ่มการแสดงออกของสารอักเสบและความเครียดออกซิเดชัน ที่มีคุณสมบัติเหนี่ยวนำให้เกิดโปรแกรมการตายของเซลล์และชักนำกระบวนการอักเสบและการทำลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน⁽¹³⁾ (ภาพประกอบ 1) นอกจากนี้สารอักเสบที่เกิดขึ้นสามารถส่งเสริมภาวะดื้อต่ออินซูลินที่ทำให้ควบคุมโรคเบาหวานได้ยากขึ้น เป็นเหตุให้โรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรัง เช่น โรคปริทันต์อักเสบ มีความสัมพันธ์แบบสองทางกับโรคเบาหวาน (Two-way relationship) กล่าวคือโรคเบาหวานที่เป็นอยู่สามารถส่งเสริมความรุนแรงและเพิ่มความเสี่ยงของโรคปริทันต์ ในทำนองเดียวกันโรคปริทันต์ที่เป็นอยู่ก็สามารถส่งเสริมภาวะดื้อต่ออินซูลิน ทำให้เพิ่มความรุนแรงของโรคเบาหวานได้เช่นกัน⁽¹⁴⁾

ลักษณะทางคลินิกของโรคปริทันต์อักเสบเป็นผลหลัก ๆ มาจากการเพิ่มขึ้นของ TNF- α , IL-1 β , รีเซปเตอร์ แอคติเวเตอร์ ออฟ นิวเคลียร์แฟกเตอร์แคปปาบี ไลแกนด (Receptor activator of NF- κ B ligand: RANKL) และปัจจัยก่อโรคของเชื้อก่อโรคปริทันต์ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลเพิ่มการแสดงออกของสารอักเสบ เช่น NF- κ B, PGE2, คอลลาจีเนส (Collagenase) และโมโนไซต์เคโมแอตแทรกแตนท์โปรตีน-1 (Monocyte chemoattractant protein-1: MCP-1) เป็นต้น ซึ่งส่งผลให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์สลายกระดูก (Osteoclast), การรวมตัวของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน การทำลายอวัยวะปริทันต์ และการบวนการอักเสบที่ส่งเสริมภาวะดื้อต่ออินซูลิน⁽¹⁵⁻¹⁷⁾



ภาพประกอบ 1 ผลของระดับน้ำตาลในเลือดสูงที่มีต่อภาวะแทรกซ้อนในโรคเบาหวานผ่านทาง
การทำงานของวิถีการส่งสัญญาณ NF-κB และ JNKs⁽¹³⁾

เคอร์คิวมินสามารถยับยั้งการอักเสบผ่านการยับยั้ง NF-κB ซึ่งเป็นวิถีการส่งสัญญาณที่จะเกิดขึ้นเมื่อเซลล์ได้รับตัวกระตุ้น เช่น การติดเชื้อ สารก่อการอักเสบ สภาวะน้ำตาลสูง หรือความเครียดออกซิเดชัน เป็นต้น โดยเมื่อเซลล์ได้รับตัวกระตุ้น อาจทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความอยู่รอดของเซลล์ โปรแกรมการตายของเซลล์ พัฒนาการของเซลล์ หรือกระบวนการอักเสบ เช่น ไซโคลออกซีจีเนส 2 (Cyclooxygenase 2: COX2), TNF- α และ IL-1 β ^(18, 19) (ภาพประกอบ 2)



ภาพประกอบ 2 ตัวกระตุ้น โมเลกุลส่งสัญญาณ และผลิตภัณฑ์ ในกระบวนการอักเสบที่เกิดจากการกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ NF- κ B⁽¹⁹⁾

การทำงานของ NF- κ B จะส่งผลเพิ่มการทำงานของ PGE2 เนื่องจาก NF- κ B สามารถเพิ่มการแสดงออกของ COX2 ซึ่งมีหน้าที่เมแทบอลิซึมกรดอะราคิโดนิก (Arachidonic acid) ให้กลายเป็น PGE2 ซึ่งเป็นสารเหนี่ยวนำการอักเสบที่กระตุ้นให้เกิดอาการแสดงของการอักเสบ เช่น ความเจ็บปวด อาการบวมแดง และมีไข้ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการควบคุมการขยายตัวของหลอดเลือดและเส้นประสาทรับรู้ความรู้สึก⁽²⁰⁾ ในโรคปริทันต์อักเสบ PGE2 มีบทบาทต่อการเพิ่มการซึมผ่านของหลอดเลือด การกระตุ้นการสร้างเซลล์สลายกระดูก และการกระตุ้นเอนไซม์คอลลาจีเนส ที่สามารถย่อยสลายคอลลาเจน โดยพบว่าเชื้อก่อโรคปริทันต์อาจส่งผลโดยตรงต่อการกระตุ้นเซลล์สร้างเส้นใยหรือเซลล์เม็ดเลือดขาว ให้สร้าง COX2 ซึ่งส่งผลเพิ่มระดับ PGE2 หรืออาจกระตุ้นให้สร้างสารอักเสบที่สามารถกระตุ้นการสร้าง COX2 หรือ PGE2 ได้^(21, 22) โดยมีการศึกษาในเซลล์

หลายชนิดรวมถึงเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่พบว่า เคอร์คิวมินสามารถลดการทำงานของ NF- κ B และลดการแสดงออกของ COX2 จึงอนุมานได้ว่าเคอร์คิวมินอาจสามารถป้องกันการเกิดโรคปริทันต์อักเสบได้เนื่องจากความสามารถในการยับยั้งการแสดงออกของ COX2 โดยอาจมีกลไกมาจากการยับยั้งกิจกรรมของ NF- κ B⁽²³⁾

เซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ (Human gingival fibroblasts: HGFs) เป็นเซลล์ที่มีจำนวนมากที่สุดในเนื้อเยื่อเหงือก พบว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่าง เซลล์สร้างเส้นใยเหงือกกับเชื้อก่อโรคปริทันต์ และระดับกลูโคสที่สูงขึ้น มีบทบาทสำคัญในการกำหนดสภาวะความเป็นโรคของเหงือกและการลุกลามของโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยเบาหวาน⁽²⁴⁻²⁶⁾ การศึกษานี้จึงเลือกใช้เซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์เพื่อเป็นตัวแทนของเซลล์ในเนื้อเยื่อเหงือก ในขณะที่มีการศึกษามากมายที่แสดงว่าสภาวะปริทันต์อักเสบก่อให้เกิดการเพิ่มขึ้นของสารอักเสบในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ อย่างไรก็ตามมีการศึกษาจำกัดที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์กับโรคเบาหวาน ซึ่งการทบทวนวรรณกรรมพบว่า เมื่อกระตุ้นเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ด้วยสภาวะน้ำตาลสูงส่งผลเพิ่มการแสดงออกของ PGE2 เมื่อเลี้ยงเซลล์ที่ระดับน้ำตาล 11.1 และ 22.2 มิลลิโมลาร์⁽²⁷⁾ ส่งผลเพิ่มอนุมูลออกซิเจนที่ว่องไว (Reactive oxygen species: ROS) เมื่อเลี้ยงเซลล์ที่ระดับน้ำตาล 50 และ 75 มิลลิโมลาร์⁽²⁵⁾ และส่งผลเพิ่มเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเอส (Matrix metalloproteinases: MMPs) ในเซลล์ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบโดย IL-1 β หรือ อินเตอร์ลิวคิน 6/ตัวรับ IL-6 ชนิดโซลูเบิล (Interleukin 6: IL-6/Soluble IL-6 receptor: sIL-6R) ที่ระดับน้ำตาล 25 มิลลิโมลาร์⁽²⁸⁾ หากทำการวิเคราะห์เนื้อเยื่อเหงือกของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบที่เป็นเบาหวานด้วยการย้อมสีทางภูมิพยาธิวิทยาจะพบการเพิ่มขึ้นของอินดิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส (Inducible nitric synthase: iNOS)⁽²⁹⁾ เมื่อวิเคราะห์เอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเหงือกผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบที่เป็นเบาหวาน พบว่ามีการแสดงออกของ NF- κ B⁽³⁰⁾ เพิ่มขึ้น และเมื่อทำการวิเคราะห์น้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยโรคปริทันต์ที่เป็นเบาหวานพบ sIL-6R, IL-1 β ⁽²⁸⁾ และ PGE2⁽³¹⁾ เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบที่ไม่เป็นเบาหวาน โดยไม่สามารถชี้ชัดถึงเซลล์ที่สร้างสารอักเสบเหล่านี้

เพื่อค้นคว้ากระบวนการตอบสนองของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ในโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ นอกจากจะต้องเลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ระดับน้ำตาลสูง (High glucose media) เพื่อจำลองสภาวะน้ำตาลสูงในโรคเบาหวานแล้ว ยังต้องมีการกระตุ้นเซลล์ด้วยปัจจัยก่อโรคของเชื้อก่อโรคปริทันต์ ในการจำลองสภาวะปริทันต์อักเสบ โดยการศึกษานี้ได้เลือกใช้ไลโปโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharides: LPS) ของเชื้อแบคทีเรียพอร์ไฟโรโมนัส จิงจิวัลิส

(*Porphyromonas gingivalis*: Pg) เนื่องจากเชื้อ Pg เป็นเชื้อที่มีอิทธิพลต่อการก่อโรคปริทันต์อักเสบอย่างมาก (Keystone pathogen) การมีอยู่ของเชื้อแม้เพียงเล็กน้อยก็สามารถส่งผลให้เกิดการลุกลามของโรคได้อย่างรวดเร็ว โดยมี LPS เป็นปัจจัยก่อโรคที่มีฤทธิ์โดดเด่นที่สุด (Key virulent factor) พบว่าในขณะที่เกิดการดำเนินของโรคปริทันต์ เชื้อ Pg จะปลดปล่อยเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกเป็นทรงกลมเล็ก ๆ เรียกว่าเวสิเคิล (Vesicle) ที่มี LPS ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์อยู่ภายใน ซึ่งจะแทรกเข้าไปในอวัยวะปริทันต์และกระตุ้นให้เกิดกระบวนการตอบสนองต่อการอักเสบในอวัยวะปริทันต์ได้เป็นอย่างดี^(32, 33)

แม้ว่าโรคปริทันต์อักเสบเป็นโรคที่เกิดจากการกระตุ้นโดยแบคทีเรีย แต่เชื่อว่าการตอบสนองของภูมิคุ้มกันมีบทบาทสำคัญต่อการทำลายกระดูกและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำให้ในหลายครั้งความพยายามในการกำจัดแบคทีเรียเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอในการรักษาสุขภาพของอวัยวะปริทันต์ที่มีการอักเสบและถูกทำลาย ส่งผลให้เกิดความพยายามในการค้นหาสารชีวภาพที่สามารถปรับปรุงการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน เพื่อช่วยให้เซลล์เปลี่ยนแปลงวิถีของกระบวนการอักเสบเพื่อสู้กับสภาวะที่เกิดจากการติดเชื้อ ซึ่งในปัจจุบันองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาได้ให้การรับรองยาปฏิชีวนะด็อกซีไซคลิน (Doxycycline) เมื่อใช้ในขนาดต่ำกว่าขนาดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ว่าสามารถลดการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนส อย่างไรก็ตามยังคงมีความกังวลถึงผลข้างเคียงของยาและสภาวะการดื้อยา⁽³⁴⁻³⁶⁾ ทำให้ยาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบและฆ่าเชื้อ เช่น ขมิ้นชัน ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน โดยในขณะนี้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเคอร์คิวมินได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางแต่ฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารสกัดหยาบขมิ้นชันยังไม่ได้ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางนัก จึงเป็นที่มาของการเลือกใช้สารสกัดหยาบขมิ้นชันซึ่งสกัดได้ด้วยวิธีการที่ง่ายและไม่ซับซ้อนในการศึกษานี้ แทนที่จะใช้สารสกัดเคอร์คิวมินเพียงอย่างเดียว

มีหลายการศึกษาที่พบว่าเคอร์คิวมินสามารถลดการทำงานของ NF-κB และลดการแสดงออกของ COX2 จึงสามารถอนุมานได้ว่าเคอร์คิวมินอาจป้องกันการเกิดโรคปริทันต์อักเสบได้เนื่องจากความสามารถในการยับยั้งการแสดงออกของ COX2 โดยอาจมีกลไกมาจากการยับยั้งกิจกรรมของ NF-κB⁽²³⁾ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่ศึกษาผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันที่มีต่อการแสดงออกของ NF-κB และ PGE2 ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ของเชื้อ Pg เพื่อจำลองสภาวะโรคปริทันต์อักเสบ ร่วมกับการเลี้ยงในระดับน้ำตาลสูง เพื่อจำลองสภาวะของโรคเบาหวาน จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ที่จัดทำขึ้นเพื่อวิเคราะห์การตอบสนองของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่มีต่อสภาวะปริทันต์อักเสบร่วมกับสภาวะน้ำตาลสูง อีกทั้งหาแนวทางที่จะปรับเปลี่ยนกระบวนการอักเสบนี้ด้วยสารสกัดหยาบขมิ้นชัน

โดยคาดหวังว่าผลการศึกษาที่ได้จะเป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้ขมิ้นชัน ซึ่งเป็นสมุนไพรไทยที่มีความเป็นพิษต่ำ หาได้ง่าย และมีราคาไม่แพง⁽³⁷⁾ เพื่อเสริมประสิทธิภาพในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยเบาหวานต่อไป

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของขมิ้นชันต่อการแสดงออกของ NF- κ B ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบโดย LPS ในสภาวะน้ำตาลสูงและน้ำตาลปกติ
2. เพื่อศึกษาผลของขมิ้นชันต่อการเพิ่มระดับของ PGE2 ที่หลังจากเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบโดย LPS ในสภาวะน้ำตาลสูงและน้ำตาลปกติ

ความสำคัญของการวิจัย

ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นข้อมูลที่บ่งบอกฤทธิ์ด้านการอักเสบของขมิ้นชัน ซึ่งสามารถนำมาใช้พิจารณาเพื่อพัฒนาเป็นยาสมุนไพร ที่ใช้เสริมประสิทธิภาพในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยเบาหวานได้

ขอบเขตของการวิจัย

ประชากรที่ใช้ในการวิจัย

เซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ จากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Connective tissue) ของเหงือกบริเวณที่ไม่มีการอักเสบ ไม่มีร่องลึกปริทันต์ และไม่มีรอยโรคใด ๆ จากผู้ป่วยที่ต้องทำการศัลยกรรมปริทันต์ ที่คลินิกหลังปริญญาคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โดยได้รับการยินยอมจากผู้ป่วย และผ่านการพิจารณารับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์แล้ว (SWUEC-315/2563F)

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

ทำการสุ่มเลือกเซลล์สร้างเส้นใยที่ได้จากผู้เข้าร่วมวิจัย 3 คน โดยใช้เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงได้ในรุ่นที่ 3-6 โดยกำหนดเกณฑ์การคัดเลือกดังนี้

1. เกณฑ์การคัดเลือก (Inclusion criteria)

- 1.1 ผู้ที่มีอายุระหว่าง 20 ถึง 60 ปี
- 1.2 ไม่มีประวัติสูบบุหรี่
- 1.3 มีสุขภาพดี ไม่มีโรคประจำตัว ไม่อยู่ระหว่างการตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร

2. เกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria)

- 2.1 ผู้ที่ไม่ยินยอมเข้าร่วมการวิจัย

2.2 ผู้ที่รับประทานยาที่มีผลต่อ ระบบภูมิคุ้มกัน การอักเสบ และการติดเชื้อ
ภายใน 1 เดือนก่อนการเข้าร่วมวิจัย

ตัวแปรที่ศึกษา

1. ตัวแปรอิสระ แบ่งเป็นดังนี้
 - 1.1 สารสกัดหยาบขมิ้นชัน
 - 1.2 สภาวะน้ำตาล
2. ตัวแปรตาม ได้แก่
 - 2.1 การแสดงออกของ NF-kB
 - 2.2 ปริมาณของ PGE2

นิยามศัพท์เฉพาะ

สารสกัดหยาบขมิ้นชัน (Curcuma Longa Crude Extract) หมายถึงสารสกัดจากขมิ้นชันที่ยังไม่ถึงขั้นบริสุทธิ์ สกัดด้วยวิธีการที่ง่ายและไม่ซับซ้อน สามารถใช้งานได้ทันทีหรือนำไปสกัดต่อเพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์ขึ้น โดยองค์ประกอบที่ได้จากสารสกัดจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลาย เนื่องจากสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของขมิ้นชันมีลักษณะเป็นโมเลกุลมีขั้วและไม่ชอบน้ำ การศึกษาครั้งนี้จึงใช้เอทานอลร้อยละ 95 ในการสกัด โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ได้รับความนิยมในการสกัดขมิ้นมากที่สุด เนื่องจากสามารถละลายสารสำคัญได้มากและรับประทานได้⁽³⁸⁾

นิวเคลียร์แฟกเตอร์แคปปาบี (NF-kB) หมายถึงโปรตีนเชิงซ้อนที่ควบคุมการถอดรหัสพันธุกรรม ในวิถีการส่งสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับ การอักเสบ การรวมตัวของเซลล์ ความอยู่รอดของเซลล์ โปรแกรมการตายของเซลล์ และการขยายสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพภายในเซลล์⁽³⁹⁾ ซึ่งเป็นวิถีการส่งสัญญาณที่มีบทบาทสำคัญต่อการตอบสนองต่อความเครียดภายในเซลล์ เช่น การติดเชื้อ ไซโตไคน์ ความเครียดออกซิเดชัน และภาวะน้ำตาลในเลือดสูง^(40, 41)

พรอสตาแกลนดินอี 2 (PGE2) หมายถึงไขมันที่เป็นสารเหนี่ยวนำการอักเสบซึ่งได้จากการเมตาบอลิซึมกรดอะราคิโดนิกด้วยเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส ซึ่ง PGE2 เกี่ยวข้องกับการทำงานของเซลล์หลายอย่าง เช่น การเพิ่มจำนวนเซลล์ โปรแกรมการตายของเซลล์ กระตุ้นการสร้างหลอดเลือด กระบวนการอักเสบ และระบบเฝ้าระวังของภูมิคุ้มกัน⁽⁴²⁾ โดย PGE2 สามารถส่งผลได้ทั้งเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบมากขึ้นหรือลดลงในลักษณะที่สัมพันธ์กับบริบท⁽⁴³⁾

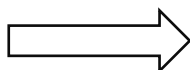
เคอร์คิวมิน (Curcumin) หมายถึงสารพฤษเคมีกลุ่มโพลีฟีนอลจากธรรมชาติ ที่มีสีเหลืองและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย พบได้ในเหง้าขมิ้นชัน เป็นองค์ประกอบหลักของสารในกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ ลักษณะโครงสร้างเป็น ไดแอริลเฮปตานอยด์ (Diarylheptanoids) ที่มี

แหวนอะโรมาติกของฟีนอล 2 วง เชื่อมต่อกันด้วยสายคาร์บอน 7 ตัว⁽⁴⁴⁾ นิยมใช้ในอุตสาหกรรม เช่น อาหารเสริม วัตถุเจือปนอาหาร และเครื่องสำอาง⁽⁴⁵⁾

กรอบแนวคิดในงานวิจัย

ตัวแปรอิสระ

- สารสกัดหยาบขมิ้นชัน
- สภาวะน้ำตาล



ตัวแปรตาม

- สารเหนี่ยวนำการอักเสบ
- NF-kB
- PGE2

สมมุติฐานในการวิจัย

สมมุติฐานที่ 1

1. H₀: กลุ่มที่เลี้ยงเซลล์ด้วยขมิ้นชันพบการแสดงออกของ NF-kB ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย LPS ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้เลี้ยงเซลล์ด้วยขมิ้นชันอย่างมีนัยสำคัญ
2. H_a: กลุ่มที่เลี้ยงเซลล์ด้วยขมิ้นชันพบการแสดงออกของ NF-kB ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย LPS แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้เลี้ยงเซลล์ด้วยขมิ้นชันอย่างมีนัยสำคัญ

สมมุติฐานที่ 2

1. H₀: กลุ่มที่เลี้ยงเซลล์ด้วยขมิ้นชันพบปริมาณ PGE2 ที่หลังจากเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย LPS ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้เลี้ยงเซลล์ด้วยขมิ้นชันอย่างมีนัยสำคัญ
2. H_a: กลุ่มที่เลี้ยงเซลล์ด้วยขมิ้นชันพบปริมาณ PGE2 ที่หลังจากเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย LPS แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้เลี้ยงเซลล์ด้วยขมิ้นชันอย่างมีนัยสำคัญ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. ขมิ้นชัน
2. โรคเบาหวาน
3. โรคปริทันต์
4. ความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์และโรคเบาหวาน
5. NF-kB
6. PGE2

ขมิ้นชัน

ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของขมิ้นชัน

ขมิ้นชันใช้ชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* Linnaeus และใช้ชื่อสามัญว่า Turmeric หรือ *Curcuma* โดยมีการจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์อยู่ในอาณาจักรพืชที่มีท่อลำเลียง มีทั้งดอกและเมล็ด จัดเป็นพืชวงศ์ขิงในสกุลขมิ้น ซึ่งเป็นสกุลเดียวกับว่านและขิง^(46, 47) (ตาราง 1)

ตาราง 1 การจำแนกชั้นทางวิทยาศาสตร์ของขมิ้นชัน^(46, 47)

ลำดับชั้นทางอนุกรมวิธาน	ชื่อทางอนุกรมวิธาน	ลักษณะทางอนุกรมวิธาน
อาณาจักร (Kingdom)	Plantae	อาณาจักรพืช
อาณาจักรย่อย (Subkingdom)	Tracheobionta	พืชมีท่อลำเลียง
หมวด (Division)	Magnoliophyta	พืชดอก
ชั้น (Class)	Liliopsida	พืชใบเลี้ยงเดี่ยว
อันดับ (Order)	Zingiberales	พืชอันดับขิงและกล้วย
วงศ์ (Family)	Zingiberaceae	พืชวงศ์ขิง
สกุล (Genus)	Curcuma	สกุลขมิ้น
สปีชีส์ (Species)	Curcuma longa	ขมิ้นชัน

ขมิ้นชันจัดเป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี เติบโตได้ดีในดินที่ระบายน้ำได้ดี และในภูมิอากาศร้อนชื้น ใช้เวลาเจริญเติบโตเต็มที่ราว 7 เดือน แต่เหง้าจะเหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวที่ราว 9-10 เดือน ลักษณะของขมิ้นชันคือมีรากเหง้าเป็นลำต้นใต้ดิน และมีลำต้นเหนือดินเป็นลำต้นเทียม โดยเหง้ามีรูปทรงกระบอก มีเปลือกสีน้ำตาลอ่อนผิวไม่เรียบลักษณะเป็นข้อ ๆ เหง้าหลักมีขนาดความยาวประมาณ 2.5 ถึง 7 เซนติเมตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.5 เซนติเมตร มีแขนงเป็นแงรูปทรงกระบอกแตกออกมาด้านข้างเป็นฝอย เนื้อในเหง้าสีเหลืองเข้มไปจนถึงส้ม⁽⁵⁾ (ภาพประกอบ 3) เหง้าหลักจะแตกออกจากลำต้นเทียมและอยู่ใต้ดิน ส่วนลำต้นเทียมจะโผล่เหนือดินมีสีเขียวแทงขึ้นจากเหง้าสูงประมาณ 60-90 เซนติเมตร มีใบสีเขียว 6-10 ใบต่อดัน รูปร่างเรียวยาวคล้ายหอกปลายแหลมความยาว 30-40 เซนติเมตร กว้าง 10-20 เซนติเมตร ก้านมีความยาว 8-15 เซนติเมตร ใบจะซ้อนกันเป็นแผงมีกลีบดอกสีขาวยาว 2-3 เซนติเมตร มีใบประดับซ้อนกัน ลักษณะเป็นข้อทรงกระบอกสีเขียวอมขาวปลายสีชมพู บริเวณโคนมีกลีบเลี้ยงสีขาว เกสรเพศผู้ลักษณะคล้ายกลีบดอกมีสีเหลืองอ่อน ความยาวช่อดอกอยู่ที่ประมาณ 10-15 เซนติเมตร ผลมีลักษณะเป็นทรงกลมหรือเป็นวงรีสีเหลืองส้มพบได้ยาก เพราะมักไม่ออกผล^(48, 49)



ภาพประกอบ 3 ภาพแสดงเหง้าของขมิ้นชัน⁽⁵⁰⁾

องค์ประกอบทางเคมีของขมิ้นชัน

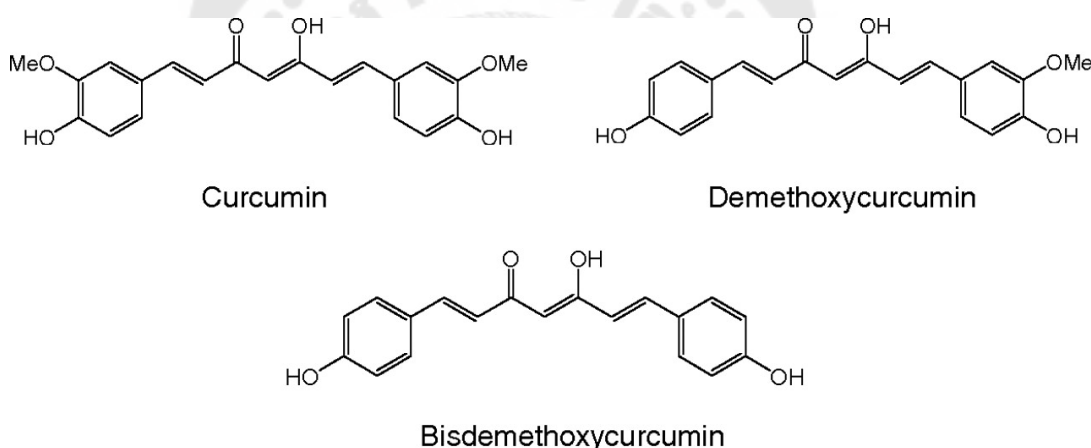
โดยทั่วไปพบว่าเหง้าขมิ้นชันประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรตเป็นหลักที่ประมาณร้อยละ 67.1 เส้นใยร้อยละ 22.7 โปรตีนร้อยละ 9.7 และไขมันร้อยละ 3.3 โดยประมาณ นอกจากนี้ยังมีวิตามินและแร่ธาตุอื่น ๆ อีกมากมาย (ตาราง 2)

ตาราง 2 แสดงข้อมูลทางโภชนาการของขมิ้นชันปริมาณ 100 กรัม เทียบกับร้อยละของปริมาณที่ควรได้รับต่อวัน^(51, 52)

สารสำคัญ	คุณค่าทางโภชนาการของขมิ้นชัน 100 กรัม	เทียบเป็นปริมาณที่ควรได้รับต่อวัน
พลังงาน	312 กิโลแคลอรี	
น้ำตาล	3.21 กรัม	
คาร์โบไฮเดรต	67.1 กรัม	24%
โปรตีน	9.7 กรัม	19%
ไขมัน	3.3 กรัม	4%
เส้นใย	22.7 กรัม	82%
วิตามิน		
ไรโบฟลาวิน	0.15 มิลลิกรัม	12%
วิตามินบี 5	0.542 มิลลิกรัม	11%
วิตามินซี	0.7 มิลลิกรัม	1%
วิตามินอี	4.4 มิลลิกรัม	20%
วิตามินเค	13.4 ไมโครกรัม	11%
อิเล็กโทรไลต์		
โซเดียม	27 มิลลิกรัม	1%
เหล็ก	55 มิลลิกรัม	306%
แร่ธาตุ		
แคลเซียม	168 มิลลิกรัม	13%
ซิงค์	4.5 มิลลิกรัม	41%

องค์ประกอบสำคัญของขมิ้นชันที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

1. เคอร์คิวมินอยด์ ซึ่งประกอบไปด้วย เคอร์คิวมินและอนุพันธ์ของเคอร์คิวมิน ได้แก่ ดีเมททอกซีเคอร์คิวมิน (Demethoxycurcumin) และบิสดีเมททอกซีเคอร์คิวมิน (Bisdemethoxycurcumin) โดยปริมาณของเคอร์คิวมินคิดเป็นราวร้อยละ 90 ของเคอร์คิวมินอยด์ทั้งหมด โดยในเหง้าขมิ้นชันตากแห้งพบเคอร์คิวมินอยู่ที่ราวร้อยละ 3-5⁽⁵³⁾ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากขมิ้นชันที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 พบสารประกอบต่าง ๆ โดยประมาณ ดังนี้ เคอร์คิวมินอยด์ร้อยละ 30.9, เคอร์คิวมินร้อยละ 16.5, บิสดีเมททอกซีเคอร์คิวมินร้อยละ 8.8 และดีเมททอกซีเคอร์คิวมินร้อยละ 5.6 โดยน้ำหนัก⁽⁵⁴⁾ ซึ่งองค์ประกอบส่วนนี้ไม่มีคุณสมบัติในการระเหยและทำให้ขมิ้นชันมีสีเหลืองส้ม อีกทั้งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลากหลาย เช่น ด้านอนุมูลอิสระ ด้านการเกิดเนื้องอก ด้านการอักเสบ ด้านจุลชีพ และมีผลปกป้องเซลล์⁽⁵⁴⁾ (ภาพประกอบ 4)



ภาพประกอบ 4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเคอร์คิวมินและอนุพันธ์ของเคอร์คิวมิน⁽⁵⁵⁾

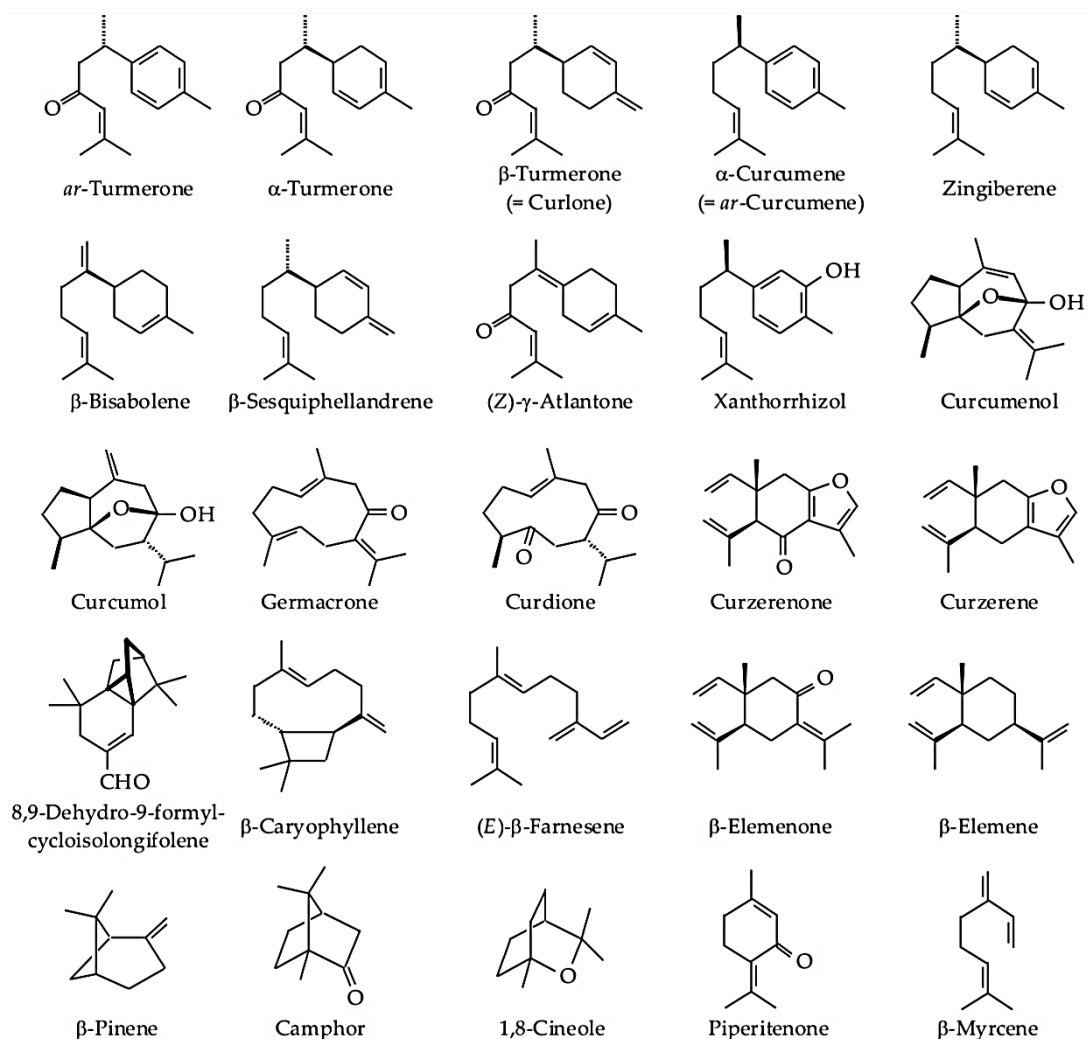
2. น้ำมันระเหย (Essential oil) มีปริมาณร้อยละ 2-4 โดยประมาณ สารเคมีส่วนนี้มีสีเหลืองอ่อน ทำให้เกิดกลิ่นเฉพาะตัวของขมิ้น ซึ่งองค์ประกอบหลักที่พบมากในน้ำมันระเหยคือ⁽¹²⁾

2.1 Turmerone (เช่น Ar-turmerone, α -Turmerone และ β -Turmerone)

2.2 Atlantone (เช่น (E)- γ -Atlantone และ (Z)- γ -Atlantone)

2.3 Zingiberene (เช่น α -Zingiberene)

อีกทั้งยังมีสารเคมีอื่นอีกมากกว่า 100 ชนิดในส่วนน้ำมันระเหย (ภาพประกอบ 5) ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีในส่วนนี้ของขมิ้นมีความหลากหลายอย่างมาก โดยมีความแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของขมิ้น ฤดูกาลในการปลูก วิธีการเพาะปลูก วิธีการสกัด และการแปรรูป^(56, 57)



ภาพประกอบ 5 โครงสร้างทางเคมีขององค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยของพืชในสกุลขมิ้น⁽⁵⁷⁾

การใช้ขมิ้นชันในการแพทย์ทางเลือกของไทย

ในการแพทย์ทางเลือกของไทยนิยมใช้ขมิ้นชันในการรักษาอาการ ท้องอืดท้องเฟ้อ จุกเสียดแน่นท้อง และรักษาแผลในกระเพาะอาหาร เนื่องจากความสามารถในการกระตุ้นการหลั่งเมือกและลดการอักเสบในกระเพาะอาหารของขมิ้นชัน นอกจากนี้ขมิ้นชันยังถูกนำมาใช้เนื่องจากคุณสมบัติในการต้านแบคทีเรียและเชื้อรา รวมไปถึงช่วยลดความเจ็บปวดและการอักเสบเมื่อมีอาการ เช่น ท้องเสีย ปวดประจำเดือน ปวดฟัน ปวดเหงือก ปวดกล้ามเนื้อ มีไข้ เป็นหวัด มีเสมหะ มีแผลสด คันหรือแพ้ ติดเชื้อราหรือแบคทีเรีย และช่วยรักษามะเร็งบางชนิด⁽⁵⁸⁾ โดยคณะกรรมการอาหารและยาได้บรรจุขมิ้นชันในตำรับยาที่พัฒนาจากสมุนไพรในบัญชียาหลัก

แห่งชาติซึ่งรวบรวมข้อมูล ตำรับยา ขนาดในการใช้ รูปแบบการใช้ ข้อบ่งใช้ และข้อห้ามใช้ เพื่อการใช้ในโรงพยาบาลและระบบสาธารณสุข โดยมีตัวอย่างตำรับยาดังนี้

ตำรับยาสมุนไพรขมิ้นชันในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2562^(12, 59)

1. ยาขมิ้นชัน

สรรพคุณ: บรรเทาอาการ ท้องอืดท้องเฟ้อ จุกเสียด และแน่นท้อง

ส่วนประกอบ: ขมิ้นชัน

วิธีใช้: รับประทาน 0.5 - 1 กรัมต่อครั้ง วันละ 4 ครั้ง หลังอาหารและก่อนนอน

2. ยาประสะกานพลู

สรรพคุณ: ใช้บรรเทาอาการ ท้องอืดท้องเฟ้อ แน่นท้อง และอาหารไม่ย่อย

ส่วนประกอบ: ดอกกานพลูร้อยละ 50 ขมิ้นชันร้อยละ 8 ร่วมกับตัวยาอื่น ๆ อีกกว่า 30 ชนิด

วิธีใช้: รับประทาน 1 กรัมต่อครั้ง วันละ 3 ครั้งหลังอาหาร

3. ยาเหลืองปิดสมุทร

ประกอบด้วย: ขมิ้นชันร้อยละ 30 ร่วมกับตัวยาอื่น ๆ อีก 12 ชนิด

สรรพคุณ: บรรเทาอาการท้องเสียที่ไม่ติดเชื้อ

วิธีใช้: รับประทาน 1 กรัมต่อครั้ง วันละ 3 ครั้งก่อนอาหาร

4. ยาประคบสมุนไพร

ประกอบด้วย: เหนง้าไพลร้อยละ 40 ขมิ้นชันร้อยละ 8 ร่วมกับตัวยาอื่น ๆ อีก 6 ชนิด

สรรพคุณ: แก้ปวด คลายกล้ามเนื้อ กระตุ้นการไหลเวียนของเลือด

วิธีใช้: นำไปนึ่ง แล้วใช้ประคบ วันละ 1-2 ครั้ง

ข้อควรระวังในการใช้ยาสมุนไพรขมิ้นชัน^(12, 60)

1. ห้ามใช้ในผู้ที่แพ้ขมิ้นชัน
2. ห้ามใช้ในผู้ที่มีท่อน้ำดีอุดตัน เนื่องจากขมิ้นชันมีฤทธิ์ขับน้ำดี
3. ควรระวังในผู้ป่วยนิ่วในถุงน้ำดี หากใช้ยาควรอยู่ภายใต้ความดูแลของแพทย์
4. ควรระวังการใช้ใน หญิงตั้งครรภ์ ผู้ให้นมบุตร และเด็ก
5. ควรระวังเมื่อใช้ร่วมกับยาต้านการแข็งตัวของเลือดและยาต้านเกล็ดเลือด
6. ควรระวังเมื่อใช้ร่วมกับยาที่เมแทบอลิซึมผ่านเอนไซม์ไซโตโครมพี 450
7. ควรระวังเมื่อใช้ร่วมกับยาด้านมะเร็ง เนื่องจากอาจมีฤทธิ์ต้านยาบางชนิด

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของขมิ้นชัน

1. ฤทธิ์ด้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร มีหลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่าขมิ้นชันไม่มีผลเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดและกิจกรรมในกระเพาะอาหาร แต่จะเพิ่มปริมาณเมือกในกระเพาะอาหารและลดการเกิดแผลในกระเพาะได้⁽⁶¹⁾ จากการศึกษาของนิตยาและคณะ⁽⁶²⁾ พบฤทธิ์ป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหารของขมิ้นชัน เมื่อทดลองโดยให้หนูกินน้ำมันระเหยของขมิ้นชัน ขนาด 0.3 กรัมต่อกิโลกรัม ก่อนการกระตุ้นให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร 30 นาที ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของพัชรวิทย์และคณะ⁽⁶³⁾ ในหนูที่ได้รับการกระตุ้นให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารหลังการให้ขมิ้นชัน 3 วันพบว่าผงขมิ้นชันขนาด 0.5 กรัมต่อกิโลกรัม สามารถป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหารได้ ในทางตรงกันข้ามการให้ผงขมิ้นชันขนาดสูงที่ 0.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือเคอร์คิวมินอยด์ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จะไม่มีผลป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหารแต่จะเพิ่มปริมาณแผลในกระเพาะอาหารและลดปริมาณเมือกในกระเพาะ จากการศึกษาทางคลินิกเกี่ยวกับผลของขมิ้นที่มีต่อแผลในกระเพาะอาหาร ในผู้ป่วย 10 รายที่ได้รับขมิ้นชันวันละ 2 กรัมทำการตรวจด้วยการส่องกล้องก่อนการรักษาและ 4, 8 และ 12 สัปดาห์หลังการรักษา พบแผลหายสนิทในผู้ป่วย 5 รายภายใน 4 สัปดาห์ และ 7 รายภายใน 4-12 สัปดาห์⁽⁵⁸⁾

2. ฤทธิ์ด้านการอักเสบ จากการศึกษาของ Xiao และคณะ⁽⁶⁴⁾ ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกหนูที่ถูกบ่มด้วยเคอร์คิวมินเข้มข้น 10 และ 20 ไมโครโมลาร์ นาน 24 ชั่วโมง ทั้งที่ได้รับการกระตุ้นและไม่ได้กระตุ้นด้วย LPS เข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าในกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วย LPS มีการเพิ่มระดับของ NF- κ B, TNF- α และ IL-1 β ร่วมกับการลดลงของอัตราส่วนระหว่าง ออสทีโอโปรเทเจริน (Osteoprotegerin: OPG) กับ RANKL ชนิดโซลูเบิล (Soluble receptor activator of NF- κ B ligand: sRANKL) ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับเคอร์คิวมินพบการลดระดับของ NF- κ B, TNF- α และ IL-1 β เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วย LPS ซึ่งในกลุ่มที่ได้รับเคอร์คิวมิน 20 ไมโครโมลาร์ มีระดับที่ลดลงมากกว่ากลุ่ม 10 ไมโครโมลาร์ อีกทั้งเคอร์คิวมินยังสามารถยับยั้งการลดลงของอัตราส่วน OPG/sRANKL เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วย LPS โดยในกลุ่ม 20 ไมโครโมลาร์ มีอัตราส่วนมากกว่ากลุ่ม 10 ไมโครโมลาร์ โดยในการศึกษาเดียวกันที่ทำการทดลองในหนูที่ถูกกระตุ้นให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบโดยการมัดลวด (Ligature-induced periodontitis model) พบ การอักเสบของเหงือก การทำลายคอลลาเจน และการสูญเสียกระดูกบ้ำฟันอย่างชัดเจน ในขณะที่หนูที่ได้รับเคอร์คิวมินขนาด 30 ไมโครกรัมต่อกรัม และ 100 ไมโครกรัมต่อกรัม วันละ 2 ครั้ง เริ่ม 1 วันก่อนการมัดลวด มีการอักเสบของเหงือกและการสูญเสียกระดูกลดลง แสดงให้เห็นว่าเคอร์คิวมินสามารถปรับการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่

เกี่ยวข้องกับโรคปริทันต์อักเสบได้ ในลักษณะที่สัมพันธ์กับความเข้มข้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่เลี้ยงด้วยเคอร์คิวมิน 1 ชั่วโมง ก่อนที่จะถูกกระตุ้นโดย LPS เข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า LPS สามารถกระตุ้นการทำงานของ NF- κ B และเพิ่มการแสดงออกของ COX2 ในขณะที่เคอร์คิวมินเข้มข้น 20 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการแสดงออกของ COX2 และ NF- κ B ได้อย่างมีนัยสำคัญในลักษณะที่สัมพันธ์กับความเข้มข้น อย่างไรก็ตามเคอร์คิวมินที่ 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่าไม่มีผลต่อทั้ง COX2 และ NF- κ B⁽²³⁾

จากการศึกษาผลกระทบของเคอร์คิวมินเพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับอินซูลินในการรักษาโรคปริทันต์ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน จากการศึกษาของ Suzana และคณะ⁽⁶⁵⁾ ซึ่งได้ทำการศึกษาดังกล่าวของเคอร์คิวมินที่มีต่อ การสูญเสียกระดูกเข้าฟัน สภาพกระดูก สภาพภูมิคุ้มกัน และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยจะทำการกระตุ้นให้เกิดโรคเบาหวานในหนูด้วย สเตปโตโซโทซิน (Streptozotocin: STZ) หลัง 3 วัน จะเริ่มให้เคอร์คิวมิน (100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน) เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับการฉีดอินซูลินวันละ 2 ครั้ง (5.5-3.5 มิลลิลิตร) เป็นระยะเวลา 19 วันก่อนที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดโรคปริทันต์โดยการมัดลวดและหลังจากมัดลวดอีก 11 วัน พบว่าในหนูกลุ่มที่เป็นเบาหวานจะสูญเสียความสูงกระดูกเข้าฟัน และมีการเพิ่มระดับของ IL-17, IL-1 β , IL-6, TNF- α และอินเตอร์เฟอรอนแกมมา (Interferon gamma: IFN- γ) อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในหนูกลุ่มที่ได้รับเคอร์คิวมินเพียงอย่างเดียวมีการลดระดับน้ำตาลในเลือดอย่างมีนัยสำคัญ อยู่ในระดับใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับอินซูลินเพียงอย่างเดียวและกลุ่มที่ได้รับอินซูลินร่วมกับเคอร์คิวมิน ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับเคอร์คิวมินร่วมกับอินซูลิน พบการสูญเสียกระดูกเข้าฟันน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ และพบการลดลงของ IL-1 β , IL-6, TNF- α และ IL-17 ร่วมกับการลดอัตราส่วนระหว่าง RANKL/OPG อย่างมีนัยสำคัญ โดยเมื่อพิจารณาจากกลุ่มที่ได้เคอร์คิวมินเพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับอินซูลินในบริเวณที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคปริทันต์ พบว่ามีการเพิ่มการแสดงออกของเซอร์ทูอิน (Sirtuin: SIRT) และรันรีเลทเทดทรานสคริปชันแฟกเตอร์ (Run-related transcription factor 2: Runx2) อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการใช้เคอร์คิวมินร่วมกับอินซูลิน ส่งผลดีต่อการอักเสบของกระดูก สามารถปรับปรุงภูมิคุ้มกัน มีผลปกป้องกระดูก และส่งเสริมความต้านทานต่อความเครียดจากการออกซิเดชัน รวมถึงช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด

เคอร์คิวมินยังสามารถยับยั้ง โปรแกรมการตายของเซลล์และการแสดงออกของ COX2 โดยไม่ยับยั้งการแสดงออกของ COX1 ส่งผลลดการสังเคราะห์ PGE2 ในเซลล์สร้างเส้นใย

ข้อต่อซินโนเวียลของผู้ป่วยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านภาวะข้อต่อหนาตัว ผ่านทางการลดการแสดงออกของโปรตีนบีซีแอล-2 (Bcl-2) ซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการตายของเซลล์ และเพิ่มการแสดงออกของ บีเอเอกซ์ (BAX), แคสเปส-3 (Caspase-3) และแคสเปส-9 (Caspase-9) ซึ่งเป็นโปรตีนกระตุ้นการตายของเซลล์ในลักษณะที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นของเคอร์คิวมิน⁽⁶⁶⁾

เมื่อทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติของ สารสกัดหยาบของขมิ้นชัน (สกัดด้วยคลอโรมีเทน-เมทานอล) เคอร์คิวมิน อนุพันธ์ของเคอร์คิวมิน และน้ำมันหอมระเหยของขมิ้นชัน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ได้รับการกระตุ้นโดย LPS พบว่าสารสกัดหยาบไม่เป็นพิษต่อเซลล์และไม่มีผลต่อกิจกรรมทางชีววิทยาของเซลล์ พบความเป็นพิษเมื่อความเข้มข้นมากกว่า 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบมีความสามารถในการยับยั้ง TNF- α ลงร้อยละ 50 (Inhibitory Concentration: IC₅₀) เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นโดย LPS ที่ความเข้มข้น 15.22 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและยับยั้ง PGE₂ ลงร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้น 0.92 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเมื่อพิจารณาความสามารถในการยับยั้ง PGE₂ พบว่าเคอร์คิวมินบริสุทธิ์มีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบขมิ้นชันและอนุพันธ์ของเคอร์คิวมินตามลำดับ เมื่อทำการแยกสกัดสารสกัดหยาบขมิ้นชันโดยเทคนิคแฟรกชันเนชัน (Fractionation) ออกเป็น 10 กลุ่มตามช่วงของแฟรกชันที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดในบางกลุ่มสูญเสียการทำงานไป แสดงให้เห็นถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างอนุพันธ์ต่าง ๆ โดยที่สารสกัดในช่วงที่พบน้ำมันหอมระเหยขมิ้นชันมีประสิทธิภาพมากกว่าเคอร์คิวมินอยด์ในการยับยั้ง PGE₂ ในขณะที่เคอร์คิวมินสามารถยับยั้งการแสดงออกของ COX2 แต่สารสกัดในช่วงที่พบน้ำมันหอมระเหยไม่มีผลต่อ COX2⁽⁶⁷⁾

จากการศึกษาของศิริดา⁽⁶⁸⁾ ในเซลล์เอนโดทีเลียมของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานโดยการฉีด STZ โดยหนูได้รับเคอร์คิวมินหลังเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน 6 สัปดาห์ที่ขนาด 30 หรือ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ติดตามผลไปจน 12 สัปดาห์ พบว่าหนูที่เป็นเบาหวานมีการเพิ่มขึ้นของความดันโลหิต แต่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มที่ได้เคอร์คิวมิน หนูที่เป็นเบาหวานพบซูปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน 4.4 เท่าของกลุ่มที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน นอกจากนี้พบว่าเคอร์คิวมินขนาด 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลดซูปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนได้ร้อยละ 44.9 โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างขนาดเคอร์คิวมิน จากการย้อมสีทางอิมมูโนพยาธิวิทยา พบการแสดงออกของ COX2, NF- κ B p65 และวิถีการส่งสัญญาณโปรตีนไคเนสซี (Protein kinase C: PKC) เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่เป็นเบาหวาน ซึ่งสามารถยับยั้งได้โดยเคอร์คิวมิน

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเจลเคอร์คิวมินและเจลออร์นิดาโซล (Ornidazole) หลังการขูดหินปูนและเกลารากฟันในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง โดยการสุ่มแยกร่องลึก

ปริพันธ์แบบ Split-mouth ออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่ม 1 จะได้รับเจลเคอร์คิวมิน (สารสกัดจากขมิ้นชัน 10 มิลลิกรัม) ส่วนกลุ่มที่ 2 จะได้รับ เจลออร์นิตาโซลร้อยละ 1 โดยจะใส่เจลจนเต็มร่องลึกปริพันธ์แล้วปิดด้วยวัสดุตกแต่งแผลปริพันธ์ 7 วัน หลังผ่านไป 1 เดือน พบว่ากลุ่มเคอร์คิวมินมีค่าความลึกร่องลึกปริพันธ์ การสูญเสียระดับอวัยวะยึดเกาะทางคลินิก และดัชนีคราบจุลินทรีย์ที่ลดลงมากกว่ากลุ่มออร์นิตาโซลอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าเคอร์คิวมินมีผลส่งเสริมการรักษาโรคปริพันธ์อักเสบเรื้อรังที่ดีกว่าออร์นิตาโซล⁽⁶⁹⁾

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากการทบทวนวรรณกรรมกว่า 1,500 ฉบับที่เกี่ยวข้องกับความสามารถของเคอร์คิวมินในการต้านอนุมูลอิสระของ Bengmark⁽⁷⁰⁾ พบว่าขมิ้นชันไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์และมีผลต้านอนุมูลอิสระ สามารถยับยั้งการอักเสบผ่านการยับยั้ง NF-kB, COX2, iNOS และไลพอกซีจีเนส (Lipoxygenase: LOX) อีกทั้งมีผลป้องกันหรือรักษาโรคในสัตว์ทดลอง เช่น โรคเบาหวาน ภาวะเลือดแข็งตัว โรคตับ โรคของตับอ่อน โรคทางระบบทางเดินหายใจ โรคของระบบทางเดินอาหาร โรคตา โรคจากความเสื่อมของระบบประสาท และโรคมะเร็ง เป็นต้น สรุปว่าขมิ้นชันเป็นประโยชน์ต่อการรักษาโรคฉับพลันและเรื้อรังที่แสดงลักษณะของการอักเสบหลายชนิด โดยสารจากธรรมชาติหลายอย่างในขมิ้นชันเช่น เคอร์คิวมินอยด์ ฟลาโวนอยด์ และโพลีฟีนอล เป็นสารที่ควรได้รับความสนใจศึกษาทั้งทางคลินิกและในห้องปฏิบัติการ

เมื่อวิเคราะห์เรตินาของหนูที่ถูกกระตุ้นให้เป็นเบาหวานเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าหนูที่เป็นเบาหวานมีการเพิ่มขึ้นของ TNF- α เป็น 2.5 เท่า และ VEGF เป็น 3 เท่า มีระดับของโปรตีนที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้แก่ กลูตาไธโอน (Glutathione: GSH) ลดลง 1.5 เท่า ในขณะที่ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (Superoxide dismutase: SOD) และแคตตาเลส (Catalase: CAT) ลดลง 2 เท่า ส่วนหนูในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเคอร์คิวมินที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมที่ 24 ชั่วโมงหลังได้รับการกระตุ้นให้เป็นเบาหวาน พบระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวานแต่ยังสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เป็นเบาหวานอย่างมีนัยสำคัญ มีระดับของโปรตีนที่สามารถต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจนใกล้เคียงกับหนูที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน ในขณะที่ TNF- α ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน และวาสคิวลาร์เอนโดทีเลียลโกรทแฟคเตอร์ (Vascular endothelial growth factor: VEGF) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับเคอร์คิวมิน แต่ยังสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน เมื่อพิจารณาภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจะพบการหนาตัวของเบสเมมเบรน (Basement Membrane) ของเส้นเลือดฝอยในเรตินาของหนูเบาหวานทำให้เกิดลักษณะเส้นเลือดตีบ แต่จะไม่พบลักษณะดังกล่าวในหนูที่ได้รับเคอร์คิวมิน⁽⁷¹⁾

เมื่อทำการทดสอบความสามารถของเคอร์คิวมินในการเพิ่มการแสดงออกของ ฮีโมออกซิจีเนส (Heme oxygenase-1: HO-1) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในเซลล์ เยื่อผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ พบว่าเคอร์คิวมินความเข้มข้น 5 และ 15 ไมโครโมลาร์ส่งผลเพิ่ม การแสดงออกของ HO-1 เมื่อเหนี่ยวนำให้เซลล์อยู่ในสภาวะออกซิเจนต่ำ แต่หากได้รับเคอร์คิวมิน น้อยกว่า 1 ชั่วโมงครึ่ง จะไม่มีผลเพิ่มการแสดงออกของยีนดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า เคอร์คิวมินมี คุณสมบัติเหนี่ยวนำ HO-1 ที่มีฤทธิ์แรงในลักษณะที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นและเวลาส่งผลปกป้อง เซลล์ต่อความเครียดออกซิเดชัน⁽⁷²⁾

4. ฤทธิ์ต้านจุลชีพ จากการศึกษาของ Shahzad และคณะ^(73, 74) พบว่าเคอร์คิวมิน สามารถปรับเปลี่ยนการยึดเกาะของแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ซึ่งส่งผลต่อโครงสร้างโดยรวม ของไบโอฟิล์ม และเมื่อใช้เคอร์คิวมินในความเข้มข้นสูงยังพบว่าเคอร์คิวมินมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา แคนดิดา อัลบิแคนส์ และต้านแบคทีเรียที่ปล่อยลอยอย่างอิสระและแบคทีเรียในไบโอฟิล์ม ซึ่งคาดว่าความเข้มข้นที่สูงขึ้นส่งผลต่อคุณสมบัติการซึมผ่านของผนังเซลล์แบคทีเรียผ่านการรบกวน แคลซินูริน (Calcineurin) และวิถีการส่งสัญญาณแมพไคเนส (Mitogen-activated protein kinase: MAPK) ซึ่งมีหน้าที่คงสภาพผนังเซลล์⁽⁷⁵⁾ สอดคล้องกับจากการศึกษาของ Izui และคณะ⁽⁷⁶⁾ ที่พบว่าเคอร์คิวมินสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ โดยมีค่าความเข้มข้นของยาต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration: MIC) ของ *Pg* ที่ 10-15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ ฟิวโซแบคทีเรียม นิวคลีเอตัม (*Fusobacterium nucleatum: Fn*), พรีโวเทลลา อินเตอร์มีเดีย (*Prevotella intermedia: Pi*), แทนเนอเรลลา ฟอร์ซียเจีย (*Tannerella forsythia: Tf*), และทรีโพนีมา เดนติโคลา (*Treponema denticola: Td*) มี MIC ต่ำกว่า 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตามเคอร์คิวมินความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตรไม่มีผลต่อ แอกกิริเกทิแบกเทอร์ แอทิโนไมซีเทมคอมิตานส์ (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans: Aa*) และเมื่อทำการทดสอบความสามารถของเคอร์คิวมินในการ ยับยั้งคราบจุลินทรีย์ที่สร้างจาก *Pg* เพียงสายพันธุ์เดียวพบว่า เคอร์คิวมินเข้มข้น 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการก่อคราบจุลินทรีย์ร้อยละ 70 และ 80 ตามลำดับ ในขณะที่ เคอร์คิวมินเข้มข้น 5, 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลในการยับยั้งคราบจุลินทรีย์ที่ ประกอบไปด้วย *Pg* และสเตรปโตคอคคัส กอร์ดอนีไอ (*Streptococcus gordonii: Sg*) ร้อยละ 55, 80 และ 90 ตามลำดับ

โรคเบาหวาน

โรคเบาหวานเป็นกลุ่มของความผิดปกติของการเผาผลาญที่แสดงออกโดยระดับน้ำตาลในเลือดสูงผิดปกติ ซึ่งเป็นผลมาจากการขาดการหลั่งสารอินซูลินหรือมีความต้านทานต่ออินซูลินหรือมีอาการเหล่านี้ร่วมกัน โดยอินซูลินจำเป็นสำหรับการขนส่งกลูโคสจากกระแสเลือดไปยังเซลล์ที่ซึ่งน้ำตาลกลูโคสจะถูกใช้เป็นพลังงาน แต่ความบกพร่องของการหลั่งอินซูลินหรือความต้านทานต่ออินซูลินทำให้ไม่สามารถขนส่งกลูโคสเข้าไปในเซลล์ได้ ดังนั้นกลูโคสจึงค้างอยู่ในกระแสเลือดทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง^(77, 78) ซึ่งหากไม่สามารถควบคุมได้จะนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของ AGEs และสารอักเสบ ซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ เช่น โรคติดเชื้อ โรคไตจากเบาหวาน โรคจอประสาทตาผิดปกติจากเบาหวาน โรคปลายเส้นประสาทอักเสบจากเบาหวาน โรคของหลอดเลือดหัวใจและสมอง โรคเส้นเลือดแดงส่วนปลายอุดตัน และโรคในช่องปาก ในกรณีที่ร้ายแรงโรคเบาหวานสามารถนำไปสู่การสูญเสียอวัยวะและการเสียชีวิตได้^(79, 80)

ประเภทของโรคเบาหวาน

1. โรคเบาหวานชนิดที่ 1 สามารถเกิดขึ้นได้ในทุกช่วงอายุ แต่พบมากในช่วงวัยเด็กและวัยรุ่น เกิดจากการที่ภูมิคุ้มกันในร่างกาย ทำลายเบต้าเซลล์ในไอส์เลตออฟแลงเกอร์ฮานส์ของตับอ่อน ซึ่งเป็นเซลล์ที่สร้างอินซูลินทำให้ผู้ป่วยสามารถผลิตอินซูลินได้น้อยหรือไม่สามารถผลิตได้เลย⁽⁸¹⁾ ในกรณีที่ไม่มีอินซูลินผู้ป่วยเหล่านี้จะเกิดภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูงร่วมกับภาวะเลือดเป็นกรด (Ketoacidosis) ซึ่งเป็นภาวะที่คุกคามชีวิต เบาหวานชนิดนี้จึงถูกเรียกว่าโรคเบาหวานที่ขึ้นกับอินซูลินเนื่องจากผู้ป่วยต้องการอินซูลินจากภายนอกเพื่อความอยู่รอด⁽⁸²⁾ โดยกลไกหลักที่คาดว่าเกี่ยวข้องกับการอักเสบและการตายของเซลล์ในโรคเบาหวานชนิดที่ 1 คือ IFN- γ , IL-1 β และ TNF- α ^(83, 84)

2. โรคเบาหวานชนิดที่ 2 คิดเป็นร้อยละ 90-95 ของผู้ป่วยโรคเบาหวานทั้งหมด ผู้ป่วยอาจไม่ได้รับการวินิจฉัยเป็นเวลาหลายปีเนื่องจากภาวะน้ำตาลในเลือดจะสูงขึ้นอย่างช้า ๆ โดยไม่มีอาการ ความเสี่ยงของการพัฒนาเบาหวานรูปแบบนี้จะเพิ่มขึ้นตาม อายุ ความอ้วน และการขาดการออกกำลังกาย⁽⁸²⁾ โดยลักษณะทางพยาธิสภาพที่สัมพันธ์ภาวะบกพร่องของการหลั่งอินซูลินและภาวะดื้ออินซูลินในเบาหวานชนิดที่ 2 ได้แก่ ความเครียดออกซิเดชัน, การมีไขมันสะสมในกล้ามเนื้อและตับอ่อน, ความเครียดในเอ็นโดพลาสมิเรติคูลัม (Endoplasmic reticulum), ภาวะน้ำตาลและไขมันสูงต่อเนื่องนานจนเป็นพิษต่อเซลล์ (Lipotoxicity และ Glucotoxicity) และการมีสารแอมิลอยด์สะสมอยู่ในตับอ่อน (Amyloidosis) สภาวะเหล่านี้จะเพิ่มความเครียดในเซลล์และเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบหรือทำให้การอักเสบที่มีอยู่แล้วรุนแรงขึ้น

โดยกลไกหลักที่คาดว่าเกี่ยวข้องกับการอักเสบและการตายของเซลล์ในโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้แก่ วิธีการส่งสัญญาณ NF-kB และ JNK^(85, 86)

3. โรคเบาหวานชนิดอื่น ๆ⁽¹²⁾ พบร้อยละ 1-5 ของผู้ป่วยเบาหวานทั้งหมด ได้แก่ เบาหวานขณะตั้งครรภ์ ความบกพร่องทางพันธุกรรมของเบต้าเซลล์ ความบกพร่องทางพันธุกรรมในการทำงานของอินซูลิน โรคของตับอ่อน โรคของระบบต่อมไร้ท่อ โรคเบาหวานที่เกิดจากยาหรือสารเคมี การติดเชื้อ และโรคทางพันธุกรรมอื่น ๆ

อุบัติการณ์ของโรคเบาหวานในประเทศไทย

จากการเก็บข้อมูลล่าสุดของสำนักงานโรคไม่ติดต่อกระทรวงสาธารณสุขในปี พ.ศ. 2559-2561 พบอัตราการเป็นโรคเบาหวานของประชากรในประเทศไทยเพิ่มขึ้นทุกปีโดย มีจำนวนประชากรที่เป็นโรคเบาหวานในปี พ.ศ. 2561 เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2559 กว่า 100,000 คน ส่วนในเขตกรุงเทพฯ พบอัตราการเป็นโรคต่อประชากร 1 แสนคนในปี พ.ศ. 2561 เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2559 ราว 3,500 คน (ตาราง 3) ในขณะที่อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวานในปี พ.ศ. 2559-2561 มีแนวโน้มลดลงทุกปี (ตาราง 4)

ตาราง 3 จำนวนและอัตราผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวาน (:100,000) ปี พ.ศ. 2559-2561 ของประเทศไทยและกรุงเทพฯ⁽⁸⁷⁾

	2559		2560		2561	
	จำนวน	อัตรา	จำนวน	อัตรา	จำนวน	อัตรา
ไทย	840,489	1,292.79	876,970	1,344.95	941,226	1,439.04
กรุงเทพฯ	75,840	1,354.56	75,164	1,345.50	79,362	1,423.51

ตาราง 4 จำนวนและอัตราการตายด้วยโรคเบาหวาน (:100,000) ปี พ.ศ. 2559-2561 ของประเทศไทยและกรุงเทพฯ⁽⁸⁸⁾

	2559		2560		2561	
	จำนวน	อัตรา	จำนวน	อัตรา	จำนวน	อัตรา
ไทย	14,487	22.01	14,322	21.96	14,305	21.87
กทม.	919	16.15	796	14.25	747	13.40

จากการจัดอันดับความสูญเสียปีสุขภาวะของประชากรไทยปี พ.ศ. 2557 ของกองยุทธศาสตร์และแผนงานกระทรวงสาธารณสุข (ตาราง 5) ได้ทำการประเมินหน่วยสุขภาวะที่สูญเสีย (Disability-Adjusted Life Year: DALY) ซึ่งเป็นดัชนีวัดความสูญเสียทางด้านสุขภาพแบบองค์รวม ที่รวมเอาทั้งปัญหาความเจ็บป่วย ความพิการ และการเสียชีวิต เพื่อหาช่องว่างทางด้านปัญหาสุขภาพ โดยเทียบกับภาวะเฉลี่ยของประชากรที่มีสุขภาพดี พบว่าในปี พ.ศ. 2557 โรคเบาหวานทำให้เกิดสุขภาวะที่สูญเสียในเพศหญิงเป็นอันดับที่ 1 และเพศชายเป็นอันดับที่ 7 ของปัญหาสุขภาพทั้งหมดในไทย

ตาราง 5 การจัดอันดับความสูญเสียปีสุขภาวะของประชากรไทย (DALY) พ.ศ. 2557⁽¹⁰⁴⁾

ชาย				หญิง		
อันดับ	สาเหตุ	DALY (000)	%	สาเหตุ	DALY (000)	%
1	อุบัติเหตุทางถนน	873	10.1	โรคเบาหวาน	531	8.4
2	โรคหลอดเลือดสมอง	574	6.6	โรคหลอดเลือดสมอง	462	7.3
3	โรคเอดส์	444	5.1	โรคหัวใจขาดเลือด	271	4.3
4	โรคหัวใจขาดเลือด	425	4.9	โรคข้อเสื่อม	244	3.9
5	การเสพติดแอลกอฮอล์	388	4.5	โรคเอดส์	229	3.6
6	โรคมะเร็งตับ	383	4.4	อุบัติเหตุทางถนน	225	3.6
7	โรคเบาหวาน	340	3.9	โรคสมองเสื่อม	197	3.1
8	ภาวะตับแข็ง	312	3.6	โรคมะเร็งตับ	160	2.5
9	โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง	290	3.4	โรคไต	137	2.2

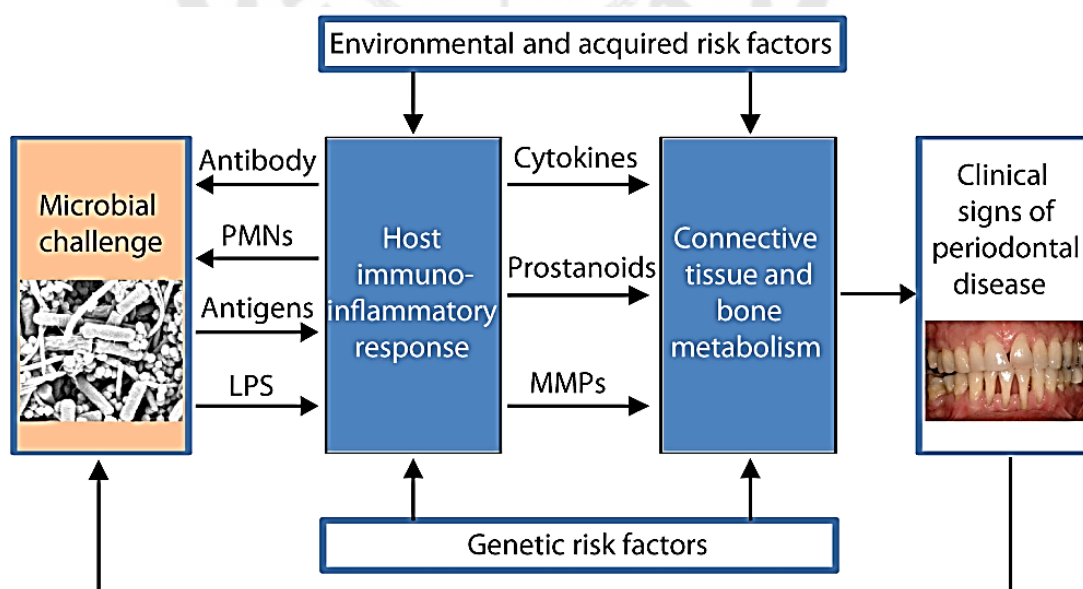
อุบัติการณ์ของโรคเบาหวานทั่วโลก

สหพันธ์โรคเบาหวานนานาชาติ (International Diabetes Federation: IDF) รายงานว่าในปี พ.ศ. 2561 มีผู้ป่วยเบาหวาน 463 ล้านคนทั่วโลกและเสียชีวิตจากโรคเบาหวาน 4.2 ล้านคน โดยผู้ป่วยเบาหวานร้อยละ 79 อาศัยอยู่ในประเทศที่มีรายได้ต่ำถึงปานกลางในภูมิภาคแปซิฟิกตะวันตกและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบว่าใน 10 ปีที่ผ่านมา มีผู้ป่วยเพิ่มขึ้นกว่าร้อยละ

62 (จาก 285 ล้านคนในปี พ.ศ. 2551) โดยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 คิดเป็นร้อยละ 90 ของโรคเบาหวานทั้งหมด พบผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงที่อาจมีการดำเนินของโรคเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 เนื่องจากมีสภาวะความทนต่อน้ำตาลบกพร่อง (Impaired glucose tolerance) กว่า 374 ล้านคน มีการคาดการณ์ว่าในอีก 25 ปีข้างหน้าจะมีผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกเพิ่มขึ้นเป็น 700 ล้านคน โดยมีผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เพิ่มขึ้นในประเทศส่วนใหญ่ และพบอุบัติการณ์ในหนุ่มสาวมากขึ้น⁽⁸⁹⁾

โรคปริทันต์อักเสบ

การทำลายจากจุลชีพ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของเซลล์ และปัจจัยเสี่ยงในสิ่งแวดล้อม ถือเป็นสาเหตุหลักของการก่อโรคปริทันต์อักเสบ (ภาพประกอบ 6) โดยคราบจุลินทรีย์ที่สะสมบนฟันจะก่อให้เกิดการอักเสบของเหงือก แต่ความรุนแรงของการอักเสบและการทำลายกระดูกเบ้าฟันขึ้นอยู่กับ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของเซลล์⁽⁹⁰⁾ โรคปริทันต์ถือเป็นโรคที่เกิดจากหลายปัจจัย โดยสัมพันธ์กับปัจจัยเสี่ยงหลายประการ เช่น การสูบบุหรี่ โรคเบาหวาน โรคที่มีความบกพร่องของภูมิคุ้มกัน หรือปัจจัยเฉพาะที่ เช่น ภาวะวิภาคของฟัน⁽¹⁴⁾ อาการทางคลินิกของโรคเกิดขึ้นจากการตอบสนองต่อการอักเสบของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งแม้ว่าการสะสมของคราบจุลินทรีย์จะเป็นปัจจัยก่อโรคปริทันต์ แต่ระดับของการอักเสบจะผันแปรไปตามการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของแต่ละบุคคล⁽⁹¹⁾



ภาพประกอบ 6 กลไกการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ⁽⁹²⁾

การวินิจฉัยโรคปริทันต์มีสองประเภทหลักคือ โรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์อักเสบ โดยที่โรคเหงือกอักเสบจะพบการอักเสบที่จำกัดอยู่แค่เหงือก ส่งผลให้เนื้อเยื่อเหงือกถูกทำลายแบบผันกลับได้ โรคเหงือกอักเสบมีลักษณะทางคลินิกคือ เหงือกบวมแดง มีเลือดออก เหงือกไม่ยึดเกาะกับฟัน และอัตราไหลของน้ำเหลืองเหงือกเพิ่มขึ้น⁽⁷⁷⁾

โรคปริทันต์อักเสบคือโรคที่มีการอักเสบของเหงือกและการละลายของกระดูกเบ้าฟัน พบร่องลึกปริทันต์ระหว่างเหงือกและฟัน พบการสลายตัวของเส้นใยคอลลาเจนในเอ็นยึดปริทันต์ พบการสูญเสียระดับการยึดเกาะทางคลินิก โดยการทำลายจะมีลักษณะลุกลามอย่างช้า ๆ ในช่วงแรกของโรคโดยทั่วไปมักไม่แสดงอาการใด ๆ เมื่อโรคลุกลามรุนแรงขึ้นจะพบลักษณะของเหงือกที่บวม แดง เลือดออก เหงือกร่น ฟันโยก ฟันเคลื่อนไปจากตำแหน่งปกติ หรือมีหนอง ซึ่งนำไปสู่การสูญเสียฟัน^(14, 77, 90) ความชุกของโรคปริทันต์อักเสบนรุนแรงอยู่ที่ร้อยละ 10 ถึง 15 ในกลุ่มประชากรส่วนใหญ่ ส่วนโรคปริทันต์อักเสบนรุนแรงปานกลางพบได้มากกว่าอยู่ที่ร้อยละ 40 ถึง 60^(93, 94) มีหลักฐานมากมายที่แสดงให้เห็นว่าโรคปริทันต์อักเสบจำเป็นต้องมีการอักเสบของเหงือกมาก่อน อย่างไรก็ตามในบางครั้งก็ไม่พบว่าโรคเหงือกอักเสบกลายเป็นโรคปริทันต์อักเสบ⁽⁹⁵⁾

แบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกประกอบไปด้วยแบคทีเรียกว่า 700 สายพันธุ์โดยที่แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหลักในการก่อโรคและทำให้เกิดการลุกลามของโรคปริทันต์คือ แบคทีเรียใน Red complex ซึ่งสมาชิกของแบคทีเรียในกลุ่มนี้ประกอบด้วย *Pg*, *Tf* และ *Td*⁽⁹⁶⁾

เมื่อเซลล์ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันได้รับการกระตุ้นโดยแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์จะทำให้เกิดการกระตุ้นการหลั่งของสารอักเสบ เช่น PGE2, IL-1, IL-6 และ TNF- α ซึ่งทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อโดยตรง ร่วมกับทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน เช่น ลิมโฟไซต์, พลาสมาเซลล์, นิวโทรฟิล หรือเซลล์สลายกระดูก โดยเซลล์เหล่านี้จะหลั่งสารที่ส่งผลต่อการอักเสบหรือด้านการอักเสบก็ได้ กระบวนการที่เกิดขึ้นนี้จึงอาจมีผลปกป้องเซลล์หรือทำลายเซลล์ในลักษณะที่สัมพันธ์กับบริบท⁽⁹⁷⁾

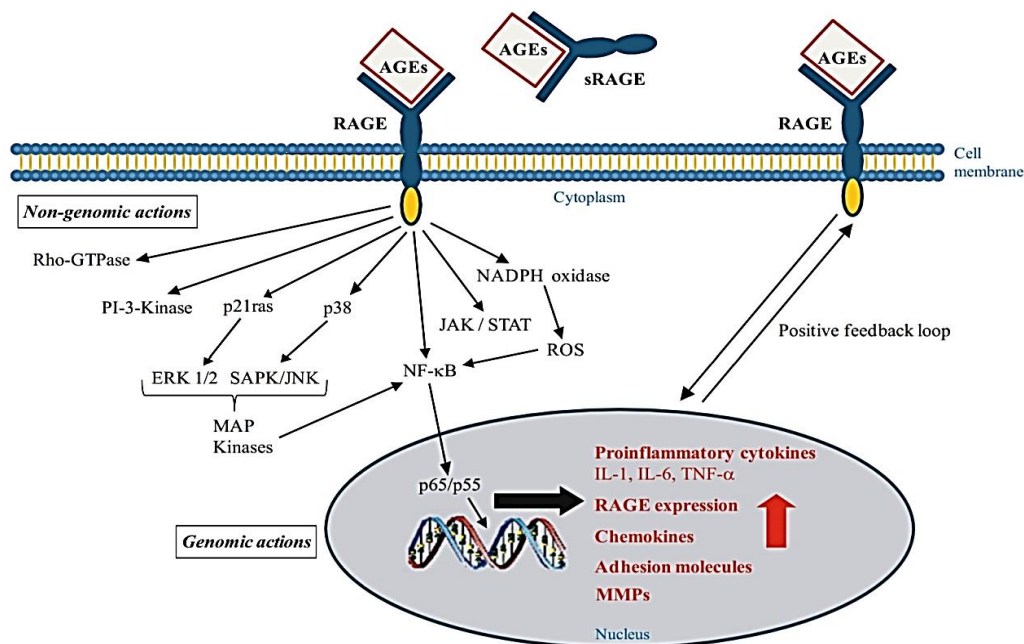
ความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบและโรคเบาหวาน

จุดเชื่อมโยงที่สำคัญระหว่างโรคเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวานอยู่ที่ความเครียดภายในเซลล์และ AGEs ที่เกิดจากหมู่คาร์บอนิลของน้ำตาลเข้าทำปฏิกิริยากับ ไขมัน โปรตีน หรือกรดนิวคลีอิก ผ่านกระบวนการไกลเคชันและออกซิเดชันโดยไม่ใช้เอนไซม์ โดยเมื่อ AGEs ถูกสร้างขึ้นแล้วจะแทบผันกลับไม่ได้เลย ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อการสร้าง AGEs คือ ความเครียดออกซิเดชันในสิ่งแวดล้อม อัตราเร็วของปฏิกิริยาไกลโคออกซิเดชัน และระดับน้ำตาล

ในเลือด ดังนั้นผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ควบคุมระดับน้ำตาลไม่ดีและไขมันในเลือดสูง จะพบการสะสมของ AGEs ในเลือดและเนื้อเยื่อได้มาก^(98, 99)

AGEs สามารถจับตัวได้บนโมเลกุลที่หลากหลายทั้งในเซลล์และนอกเซลล์ เช่น คอลลาเจน ไขมัน อีลาสติน และ ลามินิน โดยกลไกสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการเผาผลาญเมทริกซ์นอกเซลล์ อยู่ที่ความสามารถในการเพิ่มการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุล (Cross-linking) ของคอลลาเจนและอีลาสติน ทำให้เพิ่มความแข็งแรงตัวและลดความสามารถในการสลายตัวของเมทริกซ์นอกเซลล์ ประกอบกับความสามารถในการจับกับตัวรับทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า (TGF- β receptor) บนผิวเซลล์ ซึ่งส่งผลกระทบต่อกระบวนการเจริญเติบโตของเซลล์นำไปสู่การเพิ่มปริมาณเมทริกซ์นอกเซลล์ กลไกทั้งหมดนี้ส่งผลให้เกิดการหายของแผลที่ผิดปกติ การหนาตัวของเบสเมมเบรนที่ช่วยให้เส้นเลือดตีบ ภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน และการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายในอวัยวะปริทันต์ได้^(100, 101)

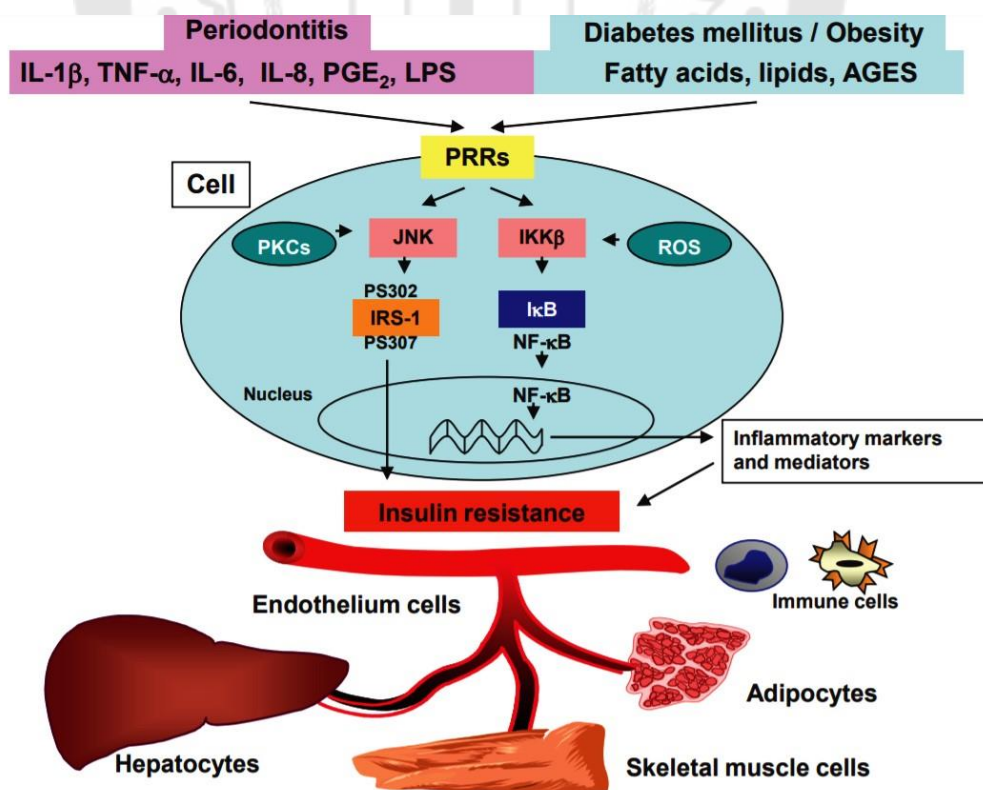
AGEs ยังสามารถจับกับตัวรับของแอดวานซ์ไกลเคชันเอนด์โปรดักส์ (Receptor for advanced glycation end products: RAGEs) บนผิวเซลล์ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการทำงานของเอ็นเอดีพีเอชออกซิเดส (NADPH oxidase: NOX) ส่งผลเพิ่ม ROS ร่วมกับกระตุ้นการส่งสัญญาณภายในเซลล์ เช่น NF- κ B, JNK และ MAPKs ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบและความอยู่รอดของเซลล์ โดยมี NF- κ B เป็นกลไกหลัก⁽¹⁰²⁾ (ภาพประกอบ 7)



ภาพประกอบ 7 โมเลกุลส่งสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับปฏิสัมพันธ์ระหว่าง AGEs-RAGE⁽¹⁰²⁾

ความเครียดภายในเซลล์ที่เกิดจากสภาวะน้ำตาลสูงสามารถกระตุ้นวิธีการส่งสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในเซลล์ได้ โดยพบว่าเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในการขยายสัญญาณของการอักเสบในโรคเบาหวานคือ เซลล์ไขมันสีขาว (White adipose tissue: WAT) ซึ่งสามารถสร้างสารอักเสบมากมาย เช่น COX2, TNF- α , IL-1, MCP-1, แองจิโอเทนซิน 2 (Angiotensin 2) และรีซิสทิน (Resistin) เป็นต้น สารอักเสบที่เกิดขึ้นจะเพิ่มการซึมผ่านของหลอดเลือด, กระตุ้นการเข้ามาของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน และเปลี่ยนฟีโนไทป์ของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันให้ไวต่อการกระตุ้นและมีลักษณะทำลายล้าง ทำให้มีการปลดปล่อยไซโตไคน์มากเกินไป ก่อให้เกิดการอักเสบแบบเรื้อรังในระดับต่ำ ๆ สะสมเฉพาะที่และทั้งระบบ ซึ่งเป็นกลไกที่อธิบายความสัมพันธ์ระหว่าง โรคอ้วน ภาวะดื้อต่ออินซูลิน โรคเบาหวาน และภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ รวมไปถึงโรคปริทันต์อักเสบได้^(83, 103, 104)

มีรายงานว่าสารอักเสบเช่น PGE2, TNF- α , IL-1 β , IL-6 และ IL-18 ทำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินผ่านทางกระตุ้น JNK และ NF- κ B ทำให้เกิดการสร้างสารอักเสบที่เชื่อว่าทำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินและทำลายเบต้าเซลล์^(105, 106) โดยที่ LPS ในโรคปริทันต์ มีความสามารถในการกระตุ้นสารอักเสบและวิธีการส่งสัญญาณเหล่านี้เช่นกัน ทำให้โรคปริทันต์อักเสบมีความสัมพันธ์กับโรคเบาหวานแบบสองทาง⁽¹⁰⁷⁾ (ภาพประกอบ 8)



ภาพประกอบ 8 กลไกที่สารอักเสบในโรคปริทันต์อักเสบอาจมีผลต่อการดื้อต่ออินซูลิน⁽¹⁰⁷⁾

ความสัมพันธ์แบบสองทางระหว่างโรคปริทันต์อักเสบและโรคเบาหวานหมายถึง การที่โรคปริทันต์อักเสบที่เป็นอยู่สามารถส่งเสริมภาวะดื้อต่ออินซูลินและทำให้โรคเบาหวานที่เป็นอยู่ควบคุมยากขึ้น ในขณะที่โรคเบาหวานที่เป็นอยู่สามารถส่งเสริมความรุนแรงและเพิ่มความเสี่ยงของโรคปริทันต์อักเสบ^(14, 77, 90) และแม้ว่าจะมีปัจจัยหลากหลายที่เป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคปริทันต์อักเสบ เช่น อายุ ภาวะกระดูกพรุน โรคอ้วน ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องจากโรคเอดส์ และสถานภาพทางเศรษฐกิจและสังคมที่ไม่ดี เป็นต้น แต่จากหลักฐานต่าง ๆ พบว่าปัจจัยเหล่านี้ไม่มีน้ำหนักมากพอจึงไม่ถูกจัดเป็นปัจจัยเสี่ยงที่แท้จริง มีเพียงโรคเบาหวานที่ควบคุมไม่ได้และการสูบบุหรี่ ที่มีหลักฐานมากมายสนับสนุนว่าสามารถส่งเสริมความรุนแรงและเพิ่มความเสี่ยงของโรคปริทันต์ได้อย่างแท้จริง⁽¹⁰⁸⁾

จากการศึกษาผลของระดับน้ำตาลสูงที่มีต่อการเคลื่อนที่และการเจริญเติบโตของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์โดยปริมาและคณะ⁽²⁵⁾ ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีระดับน้ำตาลปกติ (5.5 มิลลิโมลาร์) เป็นกลุ่มควบคุม และในระดับน้ำตาลสูงที่ 25, 50 และ 75 มิลลิโมลาร์ เป็นกลุ่มทดลองพบว่า เมื่อวิเคราะห์การเคลื่อนที่เข้าหากันของเซลล์ด้วย Wound healing assay พบว่าที่ระดับน้ำตาลตั้งแต่ 25 มิลลิโมลาร์ สามารถลดการเคลื่อนที่ของเซลล์ได้ที่ 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง แต่ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่ม 25 มิลลิโมลาร์ เมื่อวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนเซลล์ (Cell proliferation) ด้วย EdU assay พบว่าเมื่อเวลาน้อยกว่า 72 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการเพิ่มจำนวนเซลล์ระหว่างระดับน้ำตาลปกติและน้ำตาลสูง อย่างไรก็ตามที่ 72 ชั่วโมงพบการลดลงของการเพิ่มจำนวนเซลล์ซึ่งสัมพันธ์กับระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ จึงใช้เวลา 72 ชั่วโมงในการศึกษา ซึ่งพบว่าที่ระดับน้ำตาล 25 มิลลิโมลาร์ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของทั้ง อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ การเคลื่อนที่ของเซลล์ ระดับ ROS และระดับ แลคเตท ดีไฮโดรจีเนส (Lactate dehydrogenase: LDH) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาเมื่อเซลล์แตก ในขณะที่ระดับน้ำตาล 50 และ 75 มิลลิโมลาร์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของ ความบกพร่องในการเคลื่อนที่ของเซลล์ การลดปริมาณเซลล์ การลดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ การเพิ่มระดับ LDH และการเพิ่มระดับ ROS ในลักษณะที่แปรผันตามความเข้มข้นของระดับน้ำตาล โดยเมื่อวิเคราะห์ยีนที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ พบว่า HO-1 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในทุกกลุ่มทดลอง ส่วน SOD1 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มระดับน้ำตาล 50 มิลลิโมลาร์ และ 75 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่ CAT สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะในกลุ่ม 25 มิลลิโมลาร์ เมื่อวิเคราะห์การบำบัดด้วยสารต้านอนุมูลอิสระพบว่า เอ็น-อะเซทิลซิสเทอีน (N-Acetylcysteine: NAC) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ สามารถเพิ่มการเคลื่อนที่ของเซลล์

เพิ่มอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ และลดระดับ LDH อย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มน้ำตาล 50 และ 75 มิลลิโมลาร์ แต่จะมีผลเชิงลบต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในกลุ่ม 5.5 และ 25 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็นไปได้ว่า ROS จำเป็นสำหรับการทำงานในสภาวะปกติของเซลล์ ทำให้การลดบทบาทของ ROS โดย NAC อาจารย์กวนสมดุลงานสรีรวิทยาในเซลล์ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าผลของน้ำตาลที่มีต่อเซลล์เป็นไปในลักษณะที่สัมพันธ์กับระดับความเข้มข้น โดยคาดว่าภาวะเครียดออกซิเดชันที่เหนี่ยวนำโดยภาวะน้ำตาลสูง อาจเป็นกลไกเบื้องหลังการทำงานที่ผิดปกติของเซลล์ และเมื่อทำการทดสอบโดยใช้ NAC พบว่าสามารถลดความบกพร่องของการทำงานของเซลล์ได้บางส่วน จึงอาจสรุปได้ว่า ระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นอาจทำให้เซลล์เสียหาย โดยลดการเคลื่อนที่และลดการเพิ่มจำนวนเซลล์ซึ่งเป็นผลจากความเครียดออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้น ซึ่งกลไกดังกล่าวอาจอยู่เบื้องหลังอุบัติการณ์ของโรคปริทันต์อักเสบที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยเบาหวาน โดยพบหลักฐานว่าเซลล์สร้างเส้นใยมีความต้านทานต่อระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นมากกว่าเซลล์ชนิดอื่น ๆ โดยผลกระทบที่เกิดขึ้น สัมพันธ์กับความเข้มข้นของน้ำตาลและอาจแตกต่างกันไปในแต่ละเซลล์

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลของสภาวะน้ำตาลสูงต่อการเพิ่มขึ้นของ PGE2 ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ (Periodontal ligament cell: PDL cell) ของมนุษย์ โดย Chung และคณะ⁽²⁷⁾ โดยการเลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ระดับความเข้มข้นกลูโคส 45 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (2.5 มิลลิโมลาร์) ในกลุ่มควบคุม หรืออาหารเลี้ยงเซลล์ระดับน้ำตาลสูงที่ความเข้มข้นของกลูโคส 100 (กลุ่มทดลอง 1) 200 (กลุ่มทดลอง 2) และ 400 (กลุ่มทดลอง 3) มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งเท่ากับ 5.5, 11.1 และ 22.2 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ จากนั้นวัดอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ และการสร้าง PGE2 ใน 0.5, 1, 2 และ 5 วัน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสสูงขึ้นอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ 1, 2 และ 5 วัน โดยพบการสร้าง PGE2 เพิ่มขึ้นในทั้งเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์อย่างมีนัยสำคัญ ในลักษณะที่แปรผันตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มขึ้น โดยวันที่ 2 พบค่าเฉลี่ยระดับของ PGE2 (พิโกกรัมต่อ 10^4 เซลล์) ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง 1-3 ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือก เท่ากับ 9.07 ± 0.775 , 13.87 ± 0.282 , 22.61 ± 0.19 และ 40.72 ± 0.42 ตามลำดับ ในขณะที่เซลล์เอ็นยึดปริทันต์มีค่าเท่ากับ 0.49 ± 0.13 , 4.47 ± 0.33 , 6.69 ± 0.28 และ 20.72 ± 0.05 ตามลำดับแสดงให้เห็นว่าสภาวะน้ำตาลสูงส่งผลต่อกระบวนการอักเสบในเซลล์และเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งความชุกและความรุนแรงที่เพิ่มขึ้นของโรคปริทันต์ในผู้ป่วยเบาหวานสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ PGE2

จากการศึกษาผลของ AGEs ที่มีต่อการอักเสบของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์เมื่อทำการเลี้ยงเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ร่วมกับ AGEs ขนาด 0.5 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

แล้วทำการวิเคราะห์การแสดงออกของ MMP1 ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า AGEs เหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ MMP1 อย่างมากในลักษณะที่แปรผันตามความเข้มข้นและเวลา จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเหงือกจากผู้ป่วย 36 คนที่มีโรคปริทันต์อักเสบเพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับโรคเบาหวาน และผู้ป่วยสุขภาพดี เพื่อวิเคราะห์ระดับ mRNA ของ RAGE และ NF- κ B ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเหงือก พบว่ามีการแสดงออกของ NF- κ B เพิ่มขึ้นอย่างมากในกลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับเบาหวาน รองลงมาคือผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเพียงอย่างเดียว และต่ำที่สุดในกลุ่มสุขภาพดี ในขณะที่ระดับของ RAGE ในกลุ่มโรคปริทันต์สูงกว่ากลุ่มสุขภาพดีแต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มโรคปริทันต์ที่เป็นเบาหวานและกลุ่มโรคปริทันต์เพียงอย่างเดียว⁽³⁰⁾

จากการศึกษาในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ 70 คนที่เป็นและไม่เป็นเบาหวาน พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ IL-1 β และ sIL-6R ในน้ำเหลืองเหงือกสูงขึ้นตามระดับฮีโมโกลบิน เอวันซี (Hemoglobin A1C: HbA1C) ของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบที่เป็นเบาหวาน จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ พบว่าระดับน้ำตาลที่สูง (25 มิลลิโมลาร์) เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง sIL-6R ในเซลล์แมคโครฟาจ อีกทั้งยังสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง MMP1 ร่วมกับเพิ่มฟอสโฟริเลชัน (Phosphorylation) ของ p44/42 MAPK และตัวยับยั้งการทำงานของ NF- κ B (Inhibitors of NF- κ B: I κ B) ในเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการอักเสบโดย IL-1 β หรือ IL-6/sIL-6R เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ MMP1 นี้สามารถยับยั้งได้โดยตัวยับยั้ง I κ B และเมื่อนำอาหารเลี้ยงเซลล์ของแมคโครฟาจในระดับน้ำตาลสูงไปใช้เลี้ยงเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์พบว่าสามารถกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มระดับของ MMP1 ได้อย่างมีนัยสำคัญ⁽²⁸⁾

โดยจากการวิเคราะห์อภิมาน (Meta-analysis) ของ Engebretson และ Kocher⁽¹⁰⁹⁾ พบว่าการรักษาโรคปริทันต์ทำให้โรคเบาหวานที่เป็นอยู่ดีขึ้น โดยทำการทบทวนวรรณกรรมตั้งแต่ปี ค.ศ. 2009 ถึง 2013 จากงานวิจัย 56 ฉบับที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคปริทันต์ในผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานและมีการติดตามผลนานกว่า 3 เดือน พบว่าผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานมีค่าเฉลี่ยของ HbA1C ลดลงร้อยละ 0.36 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาโรคปริทันต์แสดงให้เห็นว่าการรักษาโรคปริทันต์ สามารถลดระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสมในช่วง 3 เดือนได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Khader และคณะ⁽¹¹⁰⁾ ที่เปรียบเทียบความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานและผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวาน โดยทำการทบทวนวรรณกรรมที่ตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 1970 ถึง 2003 โดยใช้การศึกษา 23 ฉบับ พบว่าโรคเบาหวานทำให้สุขอนามัยช่องปากแย่ลงอย่างมีนัยสำคัญโดยพบ ดัชนีคราบจุลินทรีย์ (Plaque index: PI) และดัชนีโรคเหงือกอักเสบ (Gingival index: GI) ที่มากกว่า เมื่อ

พิจารณาจากค่าเฉลี่ยร่องลึกปริทันต์และการสูญเสียระดับอวัยวะยึดเกาะทางคลินิก พบความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยเบาหวานที่มากกว่า อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาร้อยละของบริเวณที่มีอาการแสดงของการอักเสบพบว่า ผู้ป่วยเบาหวานมีการลุกลามของโรคปริทันต์อักเสบไม่ต่างจากผู้ป่วยที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน สรุปได้ว่าโรคเบาหวานส่งผลให้โรคปริทันต์ที่เป็นอยู่รุนแรงขึ้นแต่ไม่มีผลต่อการลุกลาม

จากการศึกษาของ Nelson และคณะ⁽¹¹¹⁾ ได้ทำการศึกษาความชุกของโรคปริทันต์อักเสบที่สัมพันธ์กับผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่ต้องพึ่งพาอินซูลิน ในผู้ป่วยเพศหญิง 1324 คน เพศชาย 949 คน ที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 15 ปี ตั้งแต่ปี ค.ศ.1983 ถึง 1989 โดยให้เกณฑ์การวินิจฉัยว่าเป็นโรคปริทันต์อักเสบเมื่อพบการสูญเสียฟันและการสูญเสียความสูงของกระดูกระหว่างฟัน พบว่าในผู้ป่วยที่มีโรคปริทันต์อักเสบรุนแรง ร้อยละ 60 มีโรคเบาหวาน ในขณะที่ร้อยละ 36 ไม่มีโรคเบาหวาน โดยความชุกของโรคปริทันต์อักเสบลำดับคลั่งกันในเพศหญิงและเพศชาย ผู้ป่วยกลุ่มอายุมากมีอุบัติการณ์ของโรคปริทันต์อักเสบที่มากกว่า นอกจากนี้ผู้ป่วยเบาหวานมีโอกาสตรวจพบโรคปริทันต์อักเสบมากกว่าผู้ที่ไม่เป็นเบาหวาน 2.6 เท่า และแม้ว่าโรคปริทันต์อักเสบจะสามารถพบได้ทั่วไปในผู้ป่วยที่ไม่ได้เป็นเบาหวานแต่พบว่าเบาหวานเพิ่มความเสี่ยงที่จะเป็นโรคปริทันต์อักเสบจึงสามารถพิจารณาโรคปริทันต์อักเสบเป็นหนึ่งในภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานแบบไม่พึ่งพาอินซูลินได้

จากการศึกษาของ Saremi และคณะ⁽¹¹²⁾ ที่ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบและอัตราการตายของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 แบบการศึกษาระยะยาวไปข้างหน้า (Prospective longitudinal study) ในผู้ป่วย 628 คนที่มีอายุมากกว่า 35 ปี โดยได้ทำการตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์และอัตราการเสียชีวิตในรัฐอริโซนา พบว่าในปีที่ 11 ผู้ป่วย 204 คนเสียชีวิต เมื่อพิจารณากลุ่มที่ตายจากภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานพบว่าโรคปริทันต์อักเสบสามารถพยากรณ์การตายจากหัวใจขาดเลือดและโรคไตจากเบาหวานได้ ซึ่งหลังจากปรับปัจจัยรบกวนอื่น ๆ แล้ว พบว่าผู้ป่วยที่มีโรคปริทันต์อักเสบนรุนแรงจะมีอัตราการเสียชีวิตจาก โรคไต โรคหัวใจขาดเลือด และโรคไตร่วมกันโรคหัวใจ เพิ่มขึ้นเป็น 8.5, 2.3 และ 3.5 เท่าตามลำดับ เมื่อเทียบกับผู้ที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบนรุนแรงปานกลางรวมกับรุนแรงน้อย การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าโรคปริทันต์อักเสบมีประสิทธิภาพในการพยากรณ์การตายจากภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานได้

นิวเคลียร์แฟคเตอร์แคปปาบี (NF- κ B)

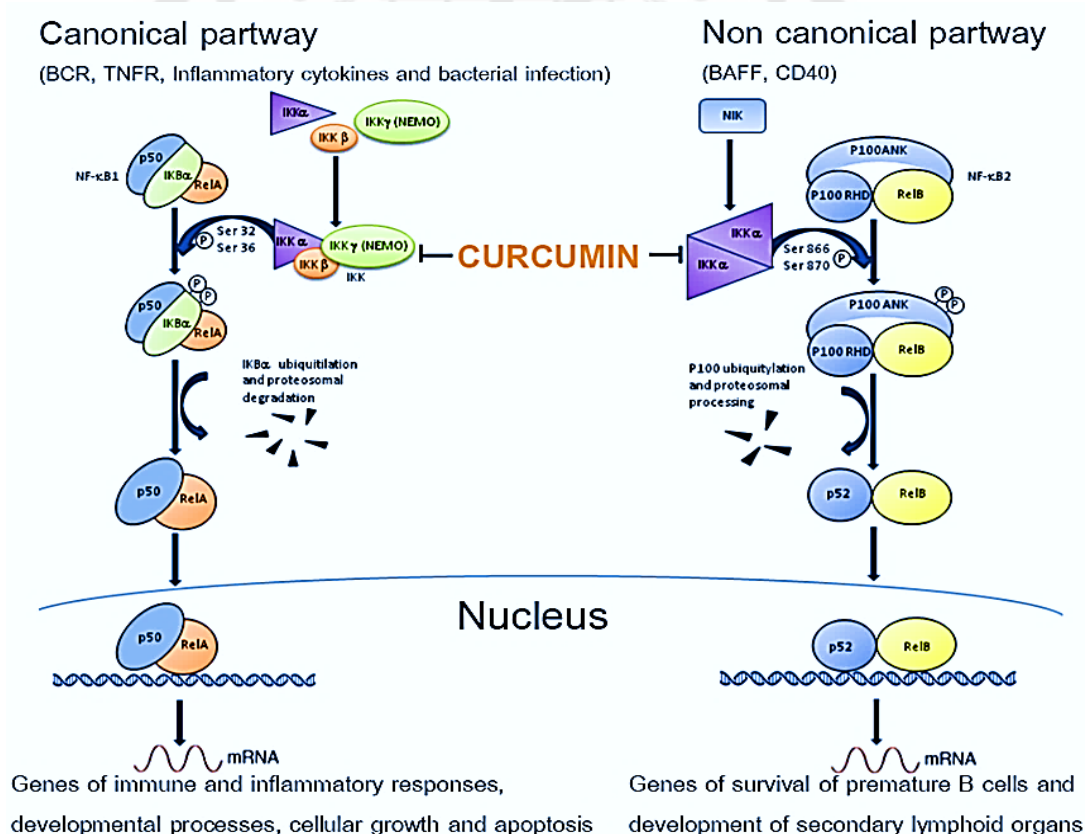
NF- κ B เป็นโปรตีนในตระกูล Rel มีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของยีนหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเซลล์ เช่น การเจริญเติบโตของเซลล์ พัฒนาการของเซลล์ ความอยู่รอดของเซลล์ และการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน ทั้งในสภาวะปกติและสภาวะอักเสบ โดยถูกกระตุ้นได้จากตัวกระตุ้นหลายอย่าง เช่น สารอักเสบ อนุมูลอิสระ แบคทีเรีย ไวรัส และความเครียดภายในเซลล์ โดยที่ p50 (NF- κ B1), p52 (NF- κ B2), p65 (RelA), c-Rel และ RelB เป็นทรานสคริปชันแฟกเตอร์โปรตีน 5 ชนิดที่ถูกจัดอยู่ในตระกูล NF- κ B ซึ่งโปรตีนเหล่านี้จะมีบริเวณ Dimerization domain ไว้จับกับ DNA เรียกว่า Rel homology domain (RHD)⁽¹³⁾

p65/p65 Homodimers และ p65/p50 Heterodimers เป็นโปรตีนในตระกูล NF- κ B ที่พบมากที่สุด โดยที่ p65 (RelA), RelB และ c-Rel จะมีบริเวณที่เรียกว่า Trans-activation domains (TADs) ที่สามารถกระตุ้นการสังเคราะห์ยีนได้ ในขณะที่ p50/p105 และ p52/p100 จะไม่มีบริเวณนี้ แต่จะมี Long ankyrin repeat-containing domain (ARD) ที่ใช้ส่งเสริมการทำงานของ Dimerization domain⁽¹³⁾

การทำงานของ NF- κ B ถูกควบคุมด้วยตัวยับยั้งการทำงานของ NF- κ B ซึ่งประกอบไปด้วยโปรตีนหลายตัวเช่น I κ B α , I κ B β และ I κ B γ ซึ่งจะจับอยู่กับ NF- κ B ทำให้ NF- κ B ล่องลอยในไซโตพลาสซึมในสภาวะที่ไม่ทำงาน โปรตีนอีกกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับวิธีการส่งสัญญาณ NF- κ B คือ ไอแคปปาบี ไคเนสคอมเพล็กซ์ (I kappa B kinase complex: IKK complex) ซึ่งมีหน้าที่กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของ I κ B ซึ่งส่งผลปลดปล่อย NF- κ B โดย IKK complex ประกอบด้วย IKK α , IKK β และ IKK γ (NEMO) ที่หากไม่มีตัวกระตุ้นก็จะล่องลอยอยู่ในไซโตพลาสซึมในสภาวะที่ไม่ทำงาน

วิธีการส่งสัญญาณ NF- κ B มี 2 ลักษณะคือ Canonical (Classical) และ Non Canonical (Alternative) ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวกระตุ้นและตัวรับผิวเซลล์ที่ถูกกระตุ้น โดยหากได้รับการกระตุ้นผ่านตัวรับผิวเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับวิถี Canonical จะส่งผลให้เกิดฟอสโฟรีเลชันของ IKK complex ทำให้ IKK complex ไปกระตุ้นกระบวนการฟอสโฟรีเลชันของ I κ B ทำให้ I κ B ถูกย่อยสลายโดย Proteasome ส่งผลให้เกิดการปลดปล่อย NF- κ B ไปสู่นิวเคลียสเพื่อกระตุ้นการแสดงออกของยีนเป้าหมาย ส่วนในวิถี Non Canonical เมื่อเซลล์ได้รับการกระตุ้น จะทำให้ NF- κ B อินดิคิงไคเนส (NF- κ B inducing kinase: NIK) ทำงาน ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เกิดการฟอสโฟรีเลชันของ IKK α dimer ทำให้เกิดการปลดปล่อย NF- κ B โดยที่เคอร์คิวมินมีผลในการยับยั้งการก่อตัวของ IKK complex และ IKK α dimer ทำให้ไม่เกิดการปลดปล่อย NF- κ B สู่นิวเคลียส ทั้งในวิถี Canonical

และ Non Canonical⁽¹⁸⁾ (ภาพประกอบ 9) โดยทั่วไปวิธีการส่งสัญญาณ NF- κ B แบบ Canonical ถูกกระตุ้นได้โดย สารอักเสบ การติดเชื้อแบคทีเรีย หรือการติดเชื้อไวรัส ซึ่งจะมีผลทั้งกระตุ้นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความอยู่รอดของเซลล์ เช่น Bcl-2 หรืออินเตอร์ลิวคิน 8 (Interleukin 6: IL-8) ซึ่งสามารถต้านการเกิดโปรแกรมการตายของเซลล์ได้⁽¹¹⁴⁾ หรือกระตุ้นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น COX2, TNF- α , IL-1 β และ iNOS ทำให้วิธีการส่งสัญญาณ NF- κ B อาจส่งผลให้เกิดการอยู่รอดของเซลล์หรือการตายของเซลล์ในลักษณะที่สัมพันธ์กับบริบท โดยที่ TNF- α และ IL-1 β เป็นตัวกระตุ้น NF- κ B ที่มีฤทธิ์รุนแรงที่สุดและสามารถทำให้เกิดกระตุ้นย้อนกลับเชิงบวกกลับไปขยายสัญญาณที่เกิดขึ้น⁽¹⁹⁾ ในขณะที่การทำงานของวิธีแบบ Non Canonical จะไปกระตุ้นโปรตีน เช่น บีลิมโฟไซต์เคโมแอตแทรกแทนต์ (B-Lymphocyte chemoattractant: BLC), เซคเคินเดอรีลิมโฟยด์ทีซุเคโมไคน์ (Secondary lymphoid tissue chemokine: SLC) และแมคโครฟาจอินเฟลมมาทอรีโปรตีน (Macrophage inflammatory proteins: MIP) เป็นต้น ซึ่งเกี่ยวข้องกับการและความอยู่รอดของ ลิมโฟไซต์ เซลล์สลายกระดูก และอวัยวะในระบบน้ำเหลือง⁽¹¹⁵⁻¹¹⁷⁾



ภาพประกอบ 9 แสดงการทำงานของวิธีการส่งสัญญาณ NF- κ B และการยับยั้งการก่อตัวของ IKK complex และ IKK α dimer ของเคอร์คิวมิน⁽¹⁸⁾

วิถีการส่งสัญญาณ NF- κ B เป็นกุญแจสำคัญที่เชื่อมโยงสภาวะ เมตาบอลิซึมที่ผิดปกติ การอักเสบ และการทำงานที่ผิดปกติของอินซูลินเข้าด้วยกัน เพราะสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับความเครียดที่เกิดจากเมตาบอลิซึมที่ผิดปกติภายในเซลล์และ AGEs สามารถกระตุ้นการทำงานของวิถีการส่งสัญญาณ NF- κ B ให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินและการทำงานที่ผิดปกติของเบต้าเซลล์ในตับอ่อน ซึ่งเกิดจากความสามารถของ NF- κ B ในการกระตุ้นโปรแกรมการตายของเซลล์และการกระตุ้น TNF- α , IL-1, COX2 และ iNOS^(118, 119)

เชื้อก่อโรคปริทันต์สามารถกระตุ้น NF- κ B ได้ผ่าน Toll-like receptor (TLRs) ซึ่งเป็นตัวรับที่มีหน้าที่ตรวจจับองค์ประกอบของจุลชีพ (Pathogen-associated molecular patterns: PAMPs) โดย TLRs แต่ละชนิดมีความสามารถในการตรวจจับ PAMPs ที่ต่างกัน โดย TLR4 จะมีความจำเพาะต่อ LPS ของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน ทำให้มีบทบาทสำคัญในโรคปริทันต์ สัญญาณที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้น TLRs ทุกชนิดสามารถชักนำไปสู่การกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณ NF- κ B ทั้งแบบ Canonical และ Non Canonical ส่งผลให้เกิดทั้งการอักเสบและการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ซึ่งจะเหนี่ยวนำการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะได้^(118, 120)

มีหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าเคอร์คิวมินรบกวนวิถีที่อยู่เหนือการฟอสโฟริเลชันของ I κ B α ส่งผลยับยั้งฟอสโฟริเลชันและการสลายตัวของ I κ B α ทำให้ NF- κ B ไม่เคลื่อนไปยังนิวเคลียส^(118, 121, 122) ต่อมา Jobin และคณะ⁽¹²³⁾ ได้ทำการศึกษาในเซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้พบว่าเคอร์คิวมินสามารถยับยั้งสัญญาณที่นำไปสู่การกระตุ้น NIK และ IKK โดยไม่ได้มีผลรบกวนกิจกรรมของ NIK หรือ IKK โดยตรง และสามารถยับยั้งทั้งสัญญาณที่กระตุ้นจาก IL-1 β และ TNF- α จึงเชื่อได้ว่าเคอร์คิวมินสามารถยับยั้งโมเลกุลส่งสัญญาณที่ตัวกระตุ้นเหล่านี้ใช้ร่วมกันในวิถีที่อยู่เหนือ NIK และ IKK อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Kasinski⁽¹²¹⁾ พบว่าสารสังเคราะห์โมโนคีโตน (Monoketone) ที่สังเคราะห์มาจากเคอร์คิวมินสามารถยับยั้งกิจกรรมของ IKK ได้โดยตรง

พรอสตาแกลนดินอี 2 (PGE2)

พรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin) เป็นกลุ่มของสารเหนี่ยวนำการอักเสบ ที่สังเคราะห์มาจากการดอะราคิโดนิก ซึ่งผ่านการเมแทบอลิต์ด้วยเอนไซม์ COX พรอสตาแกลนดินสามารถสังเคราะห์ได้จากเซลล์ เช่น เซลล์สร้างเส้นใย เซลล์เยื่อบุผิว เซลล์ไขมัน เซลล์สร้างกระดูก และเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน มีหน้าที่ควบคุมกลไกทางชีวภาพได้หลายอย่าง เช่น การขยายตัวของหลอดเลือด การซึมผ่านของหลอดเลือด ความบวม น้ำ อาการไข้ และความเจ็บปวด เนื่องจากมีผลกระตุ้นเส้นประสาทรับรู้สีกทั้งในไขสันหลังและสมองให้รับรู้ความเจ็บปวดได้มากขึ้น อีกทั้งยังมีอิทธิพลต่อการเคลื่อนที่ของลิวโคไซต์⁽¹²⁴⁻¹²⁶⁾

กรดอะราคิโดนิกเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่สังเคราะห์จากจากพอสฟอไลพิดของเยื่อหุ้มเซลล์ สามารถถูกเมตาบอไลต์ได้ด้วยทั้ง COX1 และ COX2 โดยเอนไซม์ COX1 จะสัมพันธ์กับการทำงานของร่างกายในสภาวะปกติเป็นหลัก เช่น การหลั่งเมือกป้องกันเยื่อบุกระเพาะอาหาร การรวมตัวของเกล็ดเลือด การทำงานของอวัยวะในระบบสืบพันธุ์เพศหญิง และการไหลเวียนของเลือดที่มาเลี้ยงไต โดยสามารถพบได้ทั่วไปในเนื้อเยื่อปกติ ในทางตรงกันข้าม COX2 จะพบได้น้อยในเนื้อเยื่อปกติ และจะถูกกระตุ้นได้โดย การติดเชื้อ ยีนก่อมะเร็ง ฮอริโมน หรือโกรทแฟคเตอร์ หรือสารอักเสบ เช่น NF- κ B, IL-1 β และ TNF- α อย่างไรก็ตามในปัจจุบันพบว่าการทำงานของ COX มีความซับซ้อนกว่านั้นมาก มีหลักฐานมากมายที่สนับสนุนว่าทั้ง COX1 และ COX2 สามารถสังเคราะห์พรอสตาแกลนดินที่มีผลต่อสภาวะสมดุลของร่างกาย และล้วนเกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพหลายรูปแบบ⁽¹²⁶⁻¹²⁸⁾

พรอสตาแกลนดินเป็นฮอริโมนเฉพาะที่ ซึ่งออกฤทธิ์ใกล้เคียงบริเวณที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น ส่งผลต่อกิจกรรมในเซลล์และปรับการตอบสนองของเซลล์ต่อฮอริโมนอื่น ๆ ในจำนวนพรอสตาแกลนดินทั้งหมดพบว่าพรอสตาแกลนดินอี 2 (PGE2) มีผลต่อพยาธิกำเนิดของโรคปริทันต์โดดเด่นที่สุด เนื่องจากความสามารถในการกระตุ้นการสังเคราะห์สารเหนี่ยวนำการอักเสบ เช่น MMPs และเพิ่มการแสดงออกของ RANKL^(124, 126) ซึ่งเป็นหนึ่งในตัวรับของวิธีการส่งสัญญาณ NF- κ B โดยหากตัวรับ RANKL ได้รับการกระตุ้นโดย RANK จะส่งผลกระตุ้นวิธีการส่งสัญญาณ NF- κ B ทำให้เซลล์ตั้งต้นของเซลล์สลายกระดูกพัฒนาเป็นเซลล์สลายกระดูก หรือกระตุ้นเซลล์สลายกระดูกให้หลั่งกรดไฮโดรคลอริกและเอนไซม์คอลลาจีเนสที่สามารถละลายกระดูกได้⁽¹²⁹⁾

จากการศึกษาของ Langenbach และคณะ⁽¹³⁰⁾ พบว่าการลดลงของเอนไซม์ COX2 สามารถลดการอักเสบแบบฉับพลันในหนูได้ และเมื่อได้รับตัวยับยั้ง COX2 ใน 6 ชั่วโมงหลังการกระตุ้นการอักเสบพบว่าการลดลงของ PGE2 ในระดับเดียวกันกับหนูที่ไม่มีเอนไซม์ COX2 ส่งผลยับยั้งการอักเสบในช่วงต้นของการอักเสบ โดยพบว่าหนูที่ขาดยีนสังเคราะห์ COX2 มีการลดลงของการสร้าง PGE2 ร้อยละ 75 ในขณะที่หนูที่ขาดยีนสังเคราะห์ COX1 มีการลดลงของ PGE2 ร้อยละ 25 แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ COX ทั้ง 2 ชนิดสามารถสังเคราะห์ PGE2 ได้ โดยที่ COX2 มีบทบาทในการอักเสบมากกว่าอย่างใดก็ตามหลังจากวันที่ 7 ในหนูที่ไม่มีเอนไซม์ COX2 พบเซลล์อักเสบมากกว่าและมีการผันกลับของการอักเสบเพียงเล็กน้อย เมื่อเทียบกับหนูปกติและหนูที่ไม่มี COX1 แสดงให้เห็นว่า COX2 มีผลต่อการหายของการอักเสบในช่วงท้ายของการอักเสบ สรุปได้ว่า COX2 มีผลได้ 2 ทางคือทั้งเพิ่มการอักเสบในช่วงต้นของการอักเสบและทำให้เกิดการหายของการอักเสบในช่วงท้ายของการอักเสบ

พบว่าน้ำตาลที่สูงขึ้นส่งผลต่อการเพิ่มการสังเคราะห์ COX-2, ROS, NOX, NOS และ thromboxane A₂ (Thromboxane A₂: TXA₂) แต่ไม่มีผลต่อ COX1 และลดพรอสตาไนด์ (Prostacyclin: PGI₂) ในเซลล์หลอดเลือดแดงใหญ่ของมนุษย์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ระดับน้ำตาลปกติคือ 5.5 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิลิตรและน้ำตาลสูงที่ 22.2 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิลิตร ในลักษณะที่คล้ายกับการกระตุ้นด้วยสารก่อมะเร็ง (Phorbol ester) โดย วิตามินซี, ตัวยับยั้งวิถีการส่งสัญญาณ PKC, NAC และแคลฟอสติน ซี (Calphostin C) สามารถยับยั้งการก่อตัวของ ROS และ NO ได้⁽¹³¹⁾

จากการศึกษาที่พยายามค้นคว้าผลของเคอร์คิวมินที่มีต่อ PGE₂ ของ Koeberle และคณะ⁽¹³²⁾ พบว่าเคอร์คิวมินสามารถยับยั้งการแสดงออกของ PGE₂, COX2 และ ไมโครโซมอลพรอสตาแกลนดินอี 2 ซินเทส-1 (Microsomal PGE₂ synthase-1: mPGES-1) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำงาน Downstream ต่อ COX2 มีหน้าที่เปลี่ยนพรอสตาแกลนดินอี 2 (PGH₂) เป็น PGE₂ โดย การศึกษานี้พบว่า mPGES-1 อาจเป็นโมเลกุลเป้าหมายของเคอร์คิวมินที่ทำให้เกิดการยับยั้ง PGE₂ นอกเหนือจากความสามารถในการกดการทำงานของ NF-κB ซึ่งส่งผลลดการทำงานของ COX2 โดยพบว่า เคอร์คิวมินสามารถยับยั้งการเปลี่ยน PGH₂ เป็น PGE₂ โดย mPGES-1 แบบผันกลับได้ในเซลล์มะเร็งปอดที่ได้รับการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบโดย IL-1β โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.2 ถึง 0.3 ไมโครโมลาร์ต่อลิตร เมื่อทำการศึกษาในเซลล์เม็ดเลือดของมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS พบว่า เคอร์คิวมินยับยั้งการสังเคราะห์ PGE₂ โดย COX2 แสดงให้เห็นว่าเคอร์คิวมินสามารถยับยั้ง mPGES-1 ซึ่งอาจใช้อธิบายผลต้านมะเร็งและด้านการอักเสบของเคอร์คิวมินได้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. การกำหนดประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง
2. การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย
3. การเก็บรวบรวมข้อมูล
4. การจัดกระทำและการวิเคราะห์ข้อมูล

การกำหนดประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร

เซลล์สร้างเส้นใยเหือกมนุษย์ที่เก็บมาจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเหือกบริเวณเพดานปากของผู้ป่วยที่เข้ารับการศัลยกรรมปริทันต์ที่คลินิกหลังปริญญา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โดยผู้ป่วยจะต้อง มีสุขภาพดี ไม่อยู่ระหว่างการตั้งครรภ์ ไม่มีประวัติสูบบุหรี่ และไม่รับประทานยาที่มีผลต่อ ระบบภูมิคุ้มกัน การอักเสบ และการติดเชื้อ ภายใน 1 เดือนก่อนเข้าร่วมวิจัย โดยที่เหือก ไม่มีการอักเสบ ไม่มีร่องลึกปริทันต์ และไม่มีรอยโรค

การเลือกกลุ่มตัวอย่าง

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างเส้นใยที่ได้จากผู้เข้าร่วมวิจัย 3 คน ใช้เซลล์ในรุ่นที่ 3-6 ในการทดลอง เลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีระดับน้ำตาลปกติ (5.5 มิลลิโมลาร์) และน้ำตาลสูง (50 มิลลิโมลาร์) ในสภาวะมีหรือไม่มี LPS และมีหรือไม่มีสารสกัดหยาบไขมันชั้น โดยแต่ละกลุ่มทดลองจะใช้เซลล์จากผู้เข้าร่วมวิจัย 3 คน ดังนี้

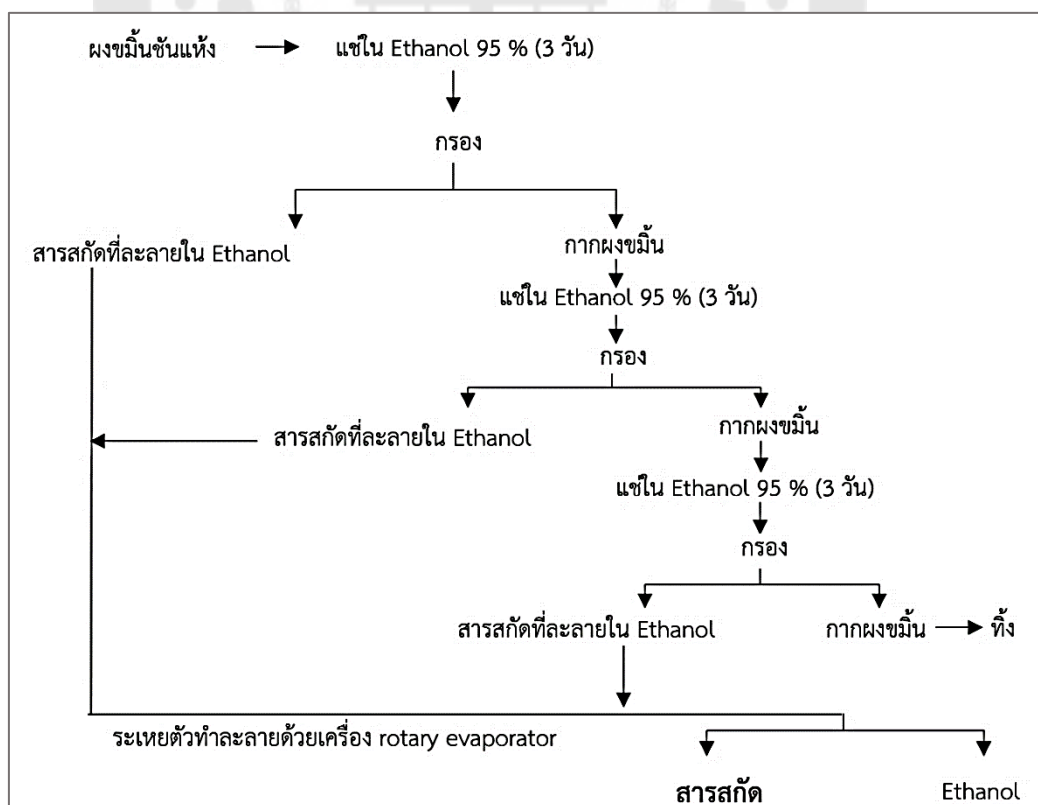
- กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุมภาวะปกติ (NG)
- กลุ่มที่ 2 กลุ่มน้ำตาลปกติที่ได้รับไขมันชั้น (NG+TUR)
- กลุ่มที่ 3 กลุ่มน้ำตาลปกติถูกกระตุ้นด้วย LPS (NG+LPS)
- กลุ่มที่ 4 กลุ่มน้ำตาลปกติถูกกระตุ้นด้วย LPS และได้รับไขมันชั้น (NG+LPS+TUR)
- กลุ่มที่ 5 กลุ่มควบคุมภาวะน้ำตาลสูง (HG)
- กลุ่มที่ 6 กลุ่มน้ำตาลสูงที่ได้รับไขมันชั้น (HG+TUR)
- กลุ่มที่ 7 กลุ่มน้ำตาลสูงถูกกระตุ้นด้วย LPS (HG+LPS)
- กลุ่มที่ 8 กลุ่มน้ำตาลสูงถูกกระตุ้นด้วย LPS และได้รับไขมันชั้น (HG+LPS+TUR)

การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ขั้นตอนการสกัดหยาบไขมันชั้น

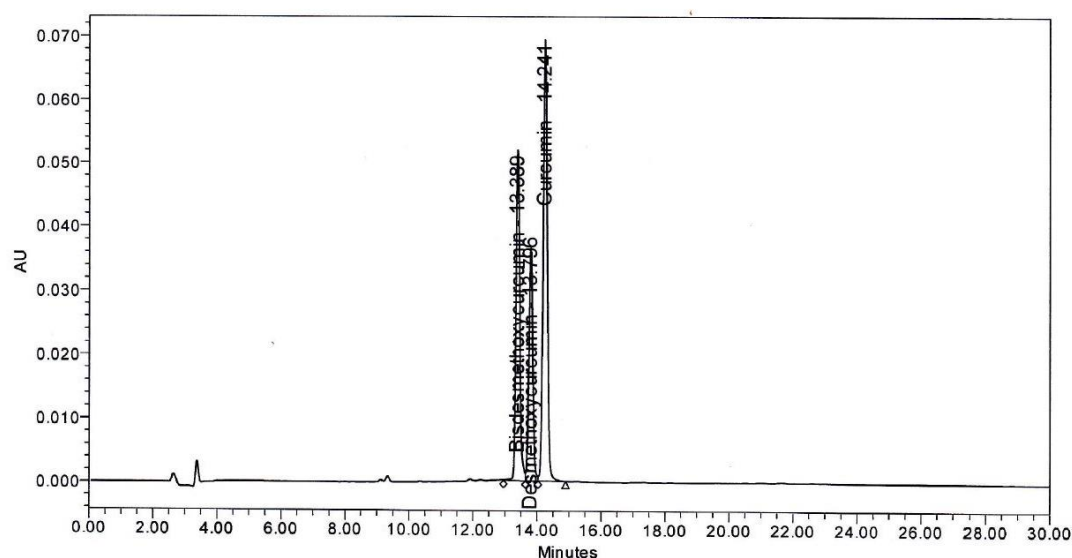
ผงไขมันชั้นถูกซื้อมาจากบริษัทเวชพงศ์โอสด (สกอันตึง) จำกัด ตั้งอยู่ในกรุงเทพฯ ประเทศไทย นำมาสกัดในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยผงไขมันชั้นน้ำหนัก 300 กรัม ถูกสกัดด้วยการหมักกับตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 เป็นเวลา 3 วัน อัตราส่วนระหว่างของแข็งต่อของเหลวคือ 1 ต่อ 10 จะได้สารสกัดที่ละลายในเอทานอล และส่วนกากของไขมัน นำกากไขมันที่แยกได้มาทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นทั้งส่วนกากไขมัน และนำสารสกัดที่ละลายในเอทานอลทั้งหมดมาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส⁽¹³³⁾ จะได้สารสกัดประเภทกึ่งของแข็ง เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอการใช้งานต่อไป (ภาพประกอบ 10) โดยมี % yield ของสารสกัดไขมันอยู่ที่ร้อยละ 22.16 ± 0.84 ซึ่งเกิดจากการคำนวณโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักสารที่สกัดได้} \times 100\%}{\text{น้ำหนักสารที่ใช้สกัด}}$$



ภาพประกอบ 10 ขั้นตอนการสกัดสารสกัดหยาบไขมันชั้น

ผลการวิเคราะห์โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบขมิ้นชันประกอบไปด้วยสารสำคัญ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) ดังนี้ เคอร์คิวมินอยด์ 16.583 ± 0.57 , เคอร์คิวมิน 5.694 ± 0.182 , ดิเมท็อกซีเคอร์คิวมิน (Demethoxycurcumin) 3.521 ± 0.107 และบิสดีเมท็อกซีเคอร์คิวมิน (Bisdemethoxycurcumin) 7.368 ± 0.282 (ภาพประกอบ 11)



ภาพประกอบ 11 ผลการวิเคราะห์โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงของ เคอร์คิวมิน, ดิเมท็อกซีเคอร์คิวมิน และบิสดีเมท็อกซีเคอร์คิวมิน

ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบขมิ้นชัน

ละลายสารสกัดหยาบขมิ้นชันในอาหารเลี้ยงเซลล์ไม่ผสมซีรัมให้ได้ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมี 1% ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide: DMSO; Panreac, Barcelone, Spain) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ไม่ผสมซีรัมเป็นตัวทำละลาย กรองผ่านแผ่นกรองทำให้ปราศจากเชื้อ Acrodisc® Syringe Filters (0.2 µm Supor® membrane, Pall Corporation, NY, USA) เส้นผ่านศูนย์กลาง 32 มิลลิเมตร จากนั้นเจือจาง 10 เท่าด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ไม่ผสมซีรัมให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของขมิ้นชัน 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 0.1% DMSO ซึ่งไม่พบว่าเป็นพิษต่อเซลล์^(134, 135)

อาหารเลี้ยงเซลล์มีฟีนอลเรดผสมซีรัมจากตัวอ่อนวัวระดับน้ำตาลปกติ⁽¹³⁶⁾

เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ใช้ในการเลี้ยงเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวน และในช่วงเริ่มต้นของการทดลองจนเซลล์เติบโตจนได้ความหนาแน่นร้อยละ 80 ของจานเลี้ยงเซลล์ โดยมีส่วนประกอบดังนี้

1. สารดีเอ็มอีเอ็มมีฟีนอลเรดน้ำตาลปกติ 5.5 มิลลิโมลาร์ (Dulbecco's Modified Eagle Medium: DMEM; Gibco, Grand Island, NY, USA)
2. ซีรัมจากตัวอ่อนวัวความเข้มข้นร้อยละ 10 (Fetal bovine serum: FBS; Gibco, Grand Island, NY, USA)
3. แอล-กลูตามีน (L-Glutamine) 2 มิลลิโมลาร์ (GLUTAMAX 200 mM; Gibco, Grand Island, NY, USA)
4. ยาปฏิชีวนะผสมยาฆ่าเชื้อราความเข้มข้นร้อยละ 1 (Antibiotic-antimycotic mixture (100X); Gibco, Grand Island, NY, USA)

อาหารเลี้ยงเซลล์ไม่มีฟีนอลเรดที่ผสมซีรัมหรือไม่ผสมซีรัมจากตัวอ่อนวัวระดับน้ำตาลปกติ⁽²⁵⁾

อาหารเลี้ยงเซลล์ไม่มีฟีนอลเรดผสมซีรัมจะถูกใช้ในขั้นตอนการกระตุ้นเซลล์ด้วยภาวะน้ำตาลต่าง ๆ กันเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในขณะที่อาหารเลี้ยงเซลล์ไม่มีฟีนอลเรดที่ไม่ผสมซีรัมจะถูกใช้ในขั้นตอนการกระตุ้นเซลล์ด้วย LPS ในสภาวะที่มีหรือไม่มีไขมัน โดยมีส่วนประกอบดังนี้

1. สารดีเอ็มอีเอ็มไม่มีฟีนอลเรดน้ำตาลปกติ
2. ผสมหรือไม่ผสมซีรัมจากตัวอ่อนวัวความเข้มข้นร้อยละ 10
3. ผสมแอล-กลูตามีน และยาปฏิชีวนะผสมยาฆ่าเชื้อรา ที่ความเข้มข้นเช่นเดียวกับอาหารเลี้ยงเซลล์ผสมซีรัมจากตัวอ่อนวัวระดับน้ำตาลปกติ

อาหารเลี้ยงเซลล์ไม่มีฟีนอลเรดผสมซีรัมจากตัวอ่อนวัวระดับน้ำตาลสูง⁽²⁵⁾

1. สารดีเอ็มอีเอ็มไม่มีฟีนอลเรดน้ำตาลสูง 25 มิลลิโมลาร์ (Gibco, Grand Island, NY, USA)
2. น้ำตาล ดี-กลูโคส (D-Glucose) 25 มิลลิโมลาร์ (Glucose Solution 200 g/l; Gibco, Grand Island, NY, USA)
3. ผสมซีรัมจากตัวอ่อนวัว, แอล-กลูตามีน และยาปฏิชีวนะผสมยาฆ่าเชื้อรา ที่ความเข้มข้นเช่นเดียวกับอาหารเลี้ยงเซลล์ผสมซีรัมจากตัวอ่อนวัวระดับน้ำตาลปกติ

อาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับแช่แข็ง⁽¹³⁷⁾

1. สารดีเอ็มอีเอ็มมีฟีนอลเรดน้ำตาลปกติ
2. ซีรัมจากตัวอ่อนวัวความเข้มข้นร้อยละ 30
3. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ร้อยละ 10

ขั้นตอนการเก็บเซลล์ปฐมภูมิและการเพาะเลี้ยงเซลล์⁽¹³⁶⁾

1. ทำการเก็บชิ้นเนื้อตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจากเพดานปากของผู้ป่วยที่ต้องได้รับการผ่าตัดศัลยกรรมปริทันต์
2. นำชิ้นเนื้อที่ได้ในห้อยผ้าตัดใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ 10% FBS ระดับน้ำตาลปกติ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณ 3 มิลลิลิตร
3. ล้างชิ้นเนื้อด้วยสารละลายฟอสเฟต (Phosphate Buffered Saline: PBS) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร 2 ครั้ง
4. ทำการตัดชิ้นเนื้อด้วยใบมีดขนาด 15 ซี ให้ได้ชิ้นเนื้อขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์ มิลลิเมตร
5. วางชิ้นเนื้อ 3-5 ชิ้นลงบนจานเลี้ยงเซลล์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ปริมาณ 2 มิลลิลิตร
6. บ่มชิ้นเนื้อในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 และสภาวะความชื้นร้อยละ 50 ทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 3 วัน
7. เมื่อเซลล์เจริญเติบโตจนได้ความหนาแน่นร้อยละ 80 (80% confluent) ของพื้นที่จานเลี้ยงเซลล์ ทำการแยกเซลล์ออกจากจานเดิมเพื่อขยายจำนวนต่อไป

ขั้นตอนการย้ายเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์จากจานเพาะเลี้ยงเซลล์และการแช่แข็งเซลล์ (Subculture and Freeze-thawing)⁽¹³⁶⁾

1. ทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกแล้วล้างด้วยสารละลาย PBS
2. ทำการเติมสารละลาย ร้อยละ 0.25 ทริปซิน-อีดีทีเอ (Trypsin- EDTA) 1 มิลลิลิตร หากย้ายเซลล์จากจานเลี้ยงเซลล์ 35 มิลลิเมตร หรือ 3 มิลลิลิตร หากย้ายเซลล์จากจานเลี้ยงเซลล์ขนาด 100 มิลลิเมตร แล้วบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 2 นาที^(138, 139)
3. ตรวจสอบการหลุดของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ เมื่อพบว่าเซลล์หลุดออกจากจานเลี้ยงเซลล์แล้วทำการเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ปริมาณ 6-8 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายทั้งหมดใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาทีที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที
4. ดูดของเหลวเหนือตะกอนทิ้งให้เหลือแต่ส่วนของตะกอนเซลล์ เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดมีฟีนอลเรดผสมซีรัมระดับน้ำตาลปกติแล้วดูดขึ้นลงเบา ๆ 2 ถึง 5 ครั้ง ก่อนถ่ายแยกเซลล์ที่ได้ลงในจานเลี้ยงเซลล์ใหม่ แต่หากต้องการเก็บเซลล์ในครั้งให้เติมอาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับแช่แข็ง โดยใช้เซลล์ในรุ่นที่ 2-3 ที่เจริญเติบโตจนถึง 90 ของพื้นที่จานเลี้ยงเซลล์ นับเซลล์ให้มีจำนวนเซลล์ประมาณ 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นแบ่งเซลล์ลงในหลอดแช่แข็ง (Cryovial

tube) หลอดละ 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นย้ายไปไว้ในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

6. เมื่อต้องการใช้เซลล์ในคลัง เซลล์จะถูกละลายอย่างในน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และถ่ายลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร เพื่อผสมกับอาหารเลี้ยงเซลล์ประมาณ 5-7 มิลลิลิตรต่อเซลล์ 1 มิลลิลิตรทันที จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงและดูของเหลวเหนือตะกอนออก แล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ ก่อนถ่ายเซลล์ลงในจานเลี้ยงเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนต่อไป

วิธีการหาคุณภาพเครื่องมือ

การวิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดหยาบไขมันชั้น (Dose-response analysis)

ทำการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ในไขมันชั้นความเข้มข้นต่าง ๆ กัน โดยใช้เทคนิค MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) assay (Invitrogen, USA) เพื่อสร้างกราฟการตอบสนองของเซลล์ต่อสารสกัดหยาบไขมันชั้น โดยเตรียมสารสกัดหยาบไขมันชั้นที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเซลล์ไม่มีฟีนอลเรดไม่ผสมซีรัมระดับน้ำตาลปกติที่มี 5% DMSO เป็นตัวทำละลายไขมัน แล้วทำการกรองผ่านแผ่นกรองทำให้ปราศจากเชื้อ Acrodisc® จากนั้นทำการเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเดียวกันเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของไขมันชั้นสุดท้ายที่ 3.75, 7.5, 15, 30 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยความเข้มข้นสุดท้ายของ DMSO อยู่ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.1 โดยตัวอย่างจากผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 3 คน จะถูกทำการทดลองแยกกันคนละ 2 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งจะทำ MTT ซ้ำ 3 หลุมต่อกลุ่มทดลอง

ทำการทดลองโดยใช้เซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ ปริมาณ 1×10^4 เซลล์ต่อหลุมในอาหารเลี้ยงเซลล์ 10% FBS ระดับน้ำตาลปกติ 100 ไมโครลิตร เลี้ยงในภาดเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม จนได้ความหนาแน่นร้อยละ 80 ของพื้นที่จานเลี้ยงเซลล์ จากนั้นเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีไขมันความเข้มข้น 3.75, 7.5, 15, 30 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่กลุ่มควบคุมจะถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเดียวกันที่มี 0.1% DMSO จากนั้นบ่มเซลล์ต่อในตู้เพาะเซลล์ 24 ชั่วโมง

เมื่อครบ 24 ชั่วโมงนำเซลล์มาทดสอบร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ด้วย MTT assay โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ไม่มีฟีนอลเรดที่ไม่ผสมซีรัมน้ำตาลปกติ 100 ไมโครลิตรที่มีสารละลาย MTT (เตรียมโดยผสมผง MTTหนัก 5 มิลลิกรัมต่อ PBS 1 มิลลิลิตร) ปริมาณ 10 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมแล้วบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 4 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกแล้วแทนที่ด้วย DMSO หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มต่อ 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลท (Tecan US, Durham, NC, USA) ที่ 570 นาโนเมตร^(23, 140)

การทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ด้วย MTT assay

1. ใช้เซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ ปริมาณ 1×10^4 เซลล์ต่อหลุม เลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ 10% FBS ระดับน้ำตาลปกติ ปริมาณ 100 ไมโครลิตร จนถึงความหนาแน่นร้อยละ 80 ของพื้นที่จานเลี้ยงเซลล์
2. เปลี่ยนมาเลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ 10% FBS ที่ระดับน้ำตาลปกติ 5.5 มิลลิโมลาร์ในกลุ่ม 1-4 หรือที่ระดับน้ำตาลสูง 50 มิลลิโมลาร์ในกลุ่ม 5-8 นาน 72 ชั่วโมง⁽²⁵⁾
3. เปลี่ยนมาเลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ระดับน้ำตาลปกติ ที่มีหรือไม่มีสารสกัดหยาบขมิ้นชันความเข้มข้นสุดท้าย 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร⁽⁶⁷⁾ ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี LPS ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง^(23, 64) โดยใช้ 0.1% DMSO ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเดียวกันในกลุ่มควบคุม
4. บ่มเซลล์ต่อ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ด้วย MTT assay ด้วยขั้นตอนการทดลองเช่นเดียวกับการวิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดหยาบขมิ้นชัน โดยตัวอย่างจากผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 3 คน จะถูกทำการทดลองแยกกันคนละ 3 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งจะทำ MTT ซ้ำ 3 หลุมต่อกลุ่มทดลอง

การเลี้ยงเซลล์เพื่อวิเคราะห์ NF-kB และ PGE2

1. ใช้เซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ ปริมาณ 3×10^5 เซลล์ ถ้ายกลงในจานเลี้ยงเซลล์ขนาด 60 มิลลิเมตร เลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ 10% FBS ระดับน้ำตาลปกติ ปริมาณ 3 มิลลิลิตร จนถึงความหนาแน่นร้อยละ 80 ของพื้นที่จานเลี้ยงเซลล์
2. เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์เช่นเดียวกับข้อ 2-3 ของการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์
3. นำเซลล์มาวิเคราะห์ NF-kB โดยตัวอย่างจากผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 3 คน จะถูกทำการทดลองแยกกันคนละ 2 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งจะนำมาทำ PCR ซ้ำ 3 หลุมต่อกลุ่มทดลอง
4. นำน้ำเลี้ยงเซลล์มาวิเคราะห์ PGE2 โดยตัวอย่างจากผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 3 คน จะถูกทำการทดลองแยกกันคนละ 2 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งจะนำมาทดสอบด้วย ELISA ซ้ำ 2 หลุมต่อกลุ่มทดลอง

การวิเคราะห์การแสดงออกของ NF-kB ด้วย RT-PCR

1. การสกัดแยก RNA ด้วย TRIzol™ Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต

- 1.1. ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกจากจานเลี้ยงเซลล์และล้างด้วย PBS 3 มิลลิลิตร เติม TRIzol™ Reagent 1 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเซลล์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 60 มิลลิเมตรเพื่อให้เซลล์แตกตัว

- 1.2. ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นถ่ายสารละลายทั้งหมดลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมคลอโรฟอร์ม 200 ไมโครลิตร แล้วบ่มทิ้งไว้ 3 นาที
- 1.3. บั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 1.4. ถ่ายส่วนใสซึ่งเป็นของเหลวเหนือตะกอนที่มี RNA ไปยังหลอดใหม่ แล้วเติมไอโซโพรพานอล 500 ไมโครลิตรในส่วนใสที่ถ่ายไว้ จากนั้นบ่มเป็นเวลา 10 นาที
- 1.5. บั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส RNA จะตกตะกอนเกิดเป็นตะกอนเซลล์ (Pellet cells) มีลักษณะเป็นก้อนสีขาวที่ก้นหลอดทดลอง
- 1.6. ทำการดูดของเหลวเหนือตะกอนทิ้งแล้วเติมเอทานอลร้อยละ 75 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร
- 1.7. บั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นดูดของเหลวเหนือตะกอนออก
- 1.8. ตากตะกอน RNA ให้แห้งเป็นเวลา 5-10 นาที
- 1.9. เจือจางตัวอย่างในน้ำปราศจาก RNase 20 ไมโครลิตร จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 และ 280 นาโนเมตร เพื่อหาค่ายี่ลต์ (Yield) ของ RNA
2. ขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอต้นแบบ (Complementary DNA: cDNA)

เป็นการสังเคราะห์ cDNA จาก RNA ด้วยปฏิกิริยา Reverse transcription โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูปยี่ห้อ PrimeScript RT Master Mix (Perfect Real Time: Takara, Shiga, Japan) ซึ่งมีขั้นตอนตามคำแนะนำของผู้ผลิตดังต่อไปนี้

 - 2.1. ผสมสารที่ใช้ในปฏิกิริยา Reverse transcription ทั้งหมดบนแท่นวางหลอด PCR เย็น (Cooling PCR-Rack) โดยให้สารทั้งหมดมีปริมาณรวม 10 ไมโครลิตรต่อ 1 ปฏิกิริยา (Reaction) ดังนี้
 - 2.1.1. 5XPrimeScript RT Master Mix ปริมาตร 2 ไมโครลิตร
 - 2.1.2. RNA ปริมาณ 1 ไมโครกรัม โดยปริมาตรขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ RNA ที่สกัดไว้
 - 2.1.3. RNase Free dH₂O เมื่อรวมกับ RNA แล้ว ปริมาตรเท่ากับ 8 ไมโครลิตร

2.2. กระตุ้นปฏิกิริยา Reverse transcription ด้วยการใช้ความร้อนบนเครื่องอุ่นหลอดทดลอง (Heating Block) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยบ่มที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วินาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา

3. ปฏิกิริยาปลูกโซ่พอลิเมอเรสแบบเรียลไทม์ (Real-time PCR)

ทำการวิเคราะห์การแสดงออกของ NF-kB P65 ด้วยไพรเมอร์ (Macrogen, Seoul, Korea) ความเข้มข้นตั้งต้น 100 ไมโครโมลาร์ โดยใช้ β -actin เป็นยีนควบคุมภายใน (Internal control) ซึ่งมีลำดับเบสดังต่อไปนี้ (ตาราง 6)

ตาราง 6 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์ในการวิเคราะห์ด้วย PCR

ยีนเป้าหมาย	ลำดับเบส (5'-3')
NF-kB P65 ⁽¹⁴¹⁾	F: AATGCTGTGCGGCTCTGCTTC R: CCGTGAAATACACCTCAATGTCCTCT
β -actin ⁽²⁵⁾	F: GGCATCCTCACCTGAAGTA R: GGGGTGTTGAAGGTCTCAAA

ทำการวิเคราะห์ Real-time PCR ด้วยระบบ SYBR Green (LightCycler® 480 SYBR Green I Master: Roche, UK) โดยมีขั้นตอนการผสมน้ำยาสำเร็จรูปสำหรับ PCR (PCR Master Mix) ตามคำแนะนำของผู้ผลิตดังต่อไปนี้

3.1. ทำการเจือจาง cDNA และไพรเมอร์ 10 เท่า ด้วย EASY Dilution (PrimeScript RT Master Mix, Takara, Shiga, Japan)

3.2. หยอด PCR Master Mix ปริมาณ 18 ไมโครลิตรและ cDNA (เจือจาง 10 เท่า) ปริมาณ 2 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลุม ลงในภาดพลาสติก 96 หลุม สำหรับ PCR (LightCycler® 480 Multiwell Plate 96, white) โดยใน PCR Master Mix 18 ไมโครลิตรประกอบด้วย

3.2.1. Master Mix ปริมาณ 10 ไมโครลิตร

3.2.2. น้ำกลั่น (PCR grade) ปริมาณ 7 ไมโครลิตร

3.2.3. ฟอว์เวิร์ดไพรเมอร์ (10 ไมโครโมลาร์) ปริมาณ 0.5 ไมโครลิตร

3.2.4. รีเวิร์สไพรเมอร์ (10 ไมโครโมลาร์) ปริมาณ 0.5 ไมโครลิตร

3.3. ทำการวิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง LightCycler 480 System

(F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland) โดยใช้อุณหภูมิ

3.3.1. Pre-incubation 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที

3.3.2. Amplification จำนวน 40 รอบ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนดังนี้

- Denaturation 95 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 วินาที

- Annealing 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 วินาที

- Extension 72 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 วินาที

3.3.3. Cooling 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วินาที

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PGE2 ด้วย ELISA

ทำการวิเคราะห์ปริมาณ PGE2 ด้วย Prostaglandin E2 Parameter Assay Kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) โดยมีขั้นตอนตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตดังนี้

1. เตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลองตามคำแนะนำของผู้ผลิต
2. เตรียมสารตัวอย่างในกลุ่มที่ 1 และ 5 โดยไม่ทำการเจือจาง เตรียมสารในกลุ่มที่ 2, 4, 6 และ 8 โดยนำอาหารเลี้ยงเซลล์ 100 ไมโครลิตรมาละลายใน 300 ไมโครลิตรของ Calibrator Diluent (เจือจาง 4 เท่า) เตรียมสารในกลุ่มที่ 3 และ 7 โดยนำอาหารเลี้ยงเซลล์ 100 ไมโครลิตรมาละลายใน 500 ไมโครลิตรของ Calibrator Diluent (เจือจาง 6 เท่า)
3. เตรียมกราฟมาตรฐานตามคำแนะนำของผู้ผลิตโดยใช้ PGE2 Standard ในแถวที่ 1 และแถวที่ 2 ของถาด 96 หลุมให้ได้ความเข้มข้นดังนี้ 0, 39, 78, 156, 313, 625, 1,250 และ 2,500 พิโกกรัมต่อมิลลิลิตร
4. เติม Calibrator Diluent 200 ไมโครลิตร ในหลุม Non-specific binding (NSB)
5. เติม Calibrator Diluent 150 ไมโครลิตร ในหลุมความเข้มข้นของสารมาตรฐานเป็นศูนย์ (B0)
6. เติมสารมาตรฐาน, สารควบคุม, และสารตัวอย่าง 150 ไมโครลิตรในหลุมที่เหลือ
7. เติมแอนติบอดีปฐมภูมิ 50 ไมโครลิตรในแต่ละหลุมยกเว้นหลุม NSB
8. ทำการซีลปิดถาด 96 หลุมและนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมงบน Microplate Shaker ที่ความแรง 500 ± 50 รอบต่อนาที
9. เติม 50 ไมโครกรัมของ PGE2 (โดยไม่ต้องทำการล้างก่อน)
10. ทำการซีลปิดถาดและบ่มต่อที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมงบน Microplate Shaker

11. ดูดสารทั้งหมดออกแล้วทำการล้างด้วย Wash Buffer แล้วเทออก
12. เติม Substrate Solution 200 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มให้พื้นแสงที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
13. เติม Stop Solution 100 ไมโครลิตรต่อหลุม
14. นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลทที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ใช้ Wavelength Correction ที่ 540 นาโนเมตร

การเก็บรวบรวมข้อมูล

MTT assay

นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ด้วยสมการ⁽¹⁴²⁾

$$\% \text{ Cell viability} = \frac{(\text{mean ODs} - \text{blank})}{(\text{mean ODctrl} - \text{blank})} \times 100$$

- ODs คือ ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มทดลอง
- ODctrl คือ ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม
- Blank คือค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่ทำการทดลองโดยไม่มีเซลล์

ELISA

สร้างกราฟมาตรฐานที่มีลักษณะเป็น Four Parameter Logistic (4-PL) Curve-Fit โดยใช้ค่าเฉลี่ยของค่าดูดกลืนแสงและค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมออนไลน์อัตโนมัติ GainData® (Arigo Biolaboratories Corp) เพื่อให้ได้ค่าเฉลี่ยค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน⁽¹⁴³⁾ ในการวิเคราะห์ PGE2 สารตัวอย่างในกลุ่ม 2, 4, 6 และ 8 ถูกเจือจางลง 4 เท่า ส่วนกลุ่มที่ 3 และ 7 ถูกเจือจาง 6 เท่า จึงต้องนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปคูณจำนวนเท่าที่ถูกเจือจาง จากนั้นนำไป Normalized กับร้อยละความมีชีวิตของเซลล์จาก MTT assay เพื่อกำจัดปัจจัยความแตกต่างระหว่างจำนวนเซลล์ในแต่ละกลุ่ม⁽¹⁴⁴⁾

PCR

ระดับ mRNA ของยีน NF-kB จะถูกคำนวณด้วยโปรแกรม LightCycler® 480 SW 1.5 โดยใช้หลักการ Delta-Delta Ct Method โดยค่าเฉลี่ย CT ของยีน NF-kB จะถูกปรับค่า (Normalized) กับค่าเฉลี่ย CT ของ β -actin ซึ่งถูกใช้เป็นยีนควบคุม จากนั้นจะนำค่ามาปรับอัตราส่วนเป็นจำนวนเท่าในการแสดงออกของยีนของกลุ่มทดลองต่อกลุ่มควบคุมภาวะปกติ เรียกว่าค่า Normalized ratio โดยมีสมการดังนี้

$$\text{จำนวนเท่าในการแสดงออกของยีน (Fold gene expression)} = 2^{-(\Delta\Delta Ct)}$$

การจัดกระทำข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS Statistics Base 22.0) รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ยอมรับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P\text{-value} < 0.05$)
2. ทดสอบการแจกแจงด้วยการทดสอบของชาปิโร-วิลค์ (Shapiro-Wilk test)
3. วิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดหยาบขมิ้นชัน โดยทดสอบความแปรปรวนด้วยการทดสอบของเลวี (Levene's test) จากนั้นทดสอบนัยสำคัญระหว่างกลุ่มด้วยการทดสอบครุสคัล-วอลลิส (Kruskal-Wallis test) แล้วทดสอบรายคู่ด้วยดัน-บอนเฟรโรนี (Dunn-Bonferroni post hoc test)
4. วิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ การแสดงออกของ NF- κ B และความเข้มข้นของ PGE2 ด้วย Paired Samples T-test

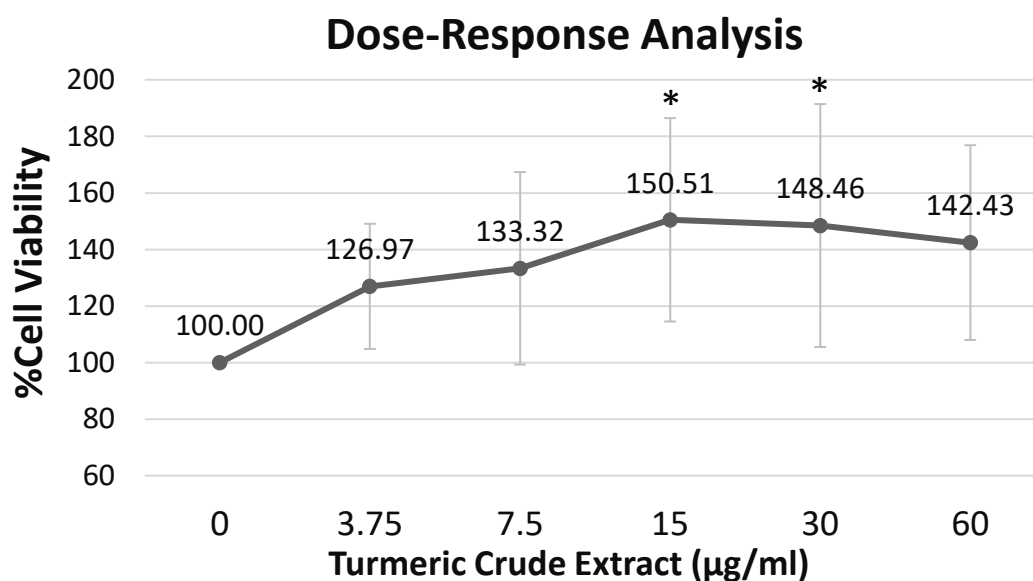
บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อวิเคราะห์การตอบสนองของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่มีต่อสภาวะปริทันต์อักเสบร่วมกับสภาวะน้ำตาลสูง อีกทั้งหาแนวทางที่จะปรับเปลี่ยนกระบวนการอักเสบนี้ด้วยสารสกัดหยาบขมิ้นชัน โดยคาดหวังว่าผลการศึกษาที่ได้จะสามารถบ่งชี้กระบวนการตอบสนองของเซลล์ต่อสารสกัดหยาบขมิ้นชันภายใต้สภาวะต่าง ๆ กัน ผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการวิจัยตามขั้นตอนที่กำหนดไว้ในเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย กระทั่งสามารถเก็บรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลตามวัตถุประสงค์ที่ได้กำหนดไว้ ดังนี้

1. ผลการวิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดหยาบขมิ้นชันด้วย MTT assay
2. ผลการวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ด้วย MTT assay
3. ผลการวิเคราะห์การแสดงออกของ NF-kB ด้วย RT-PCR
4. ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PGE2 ด้วย ELISA

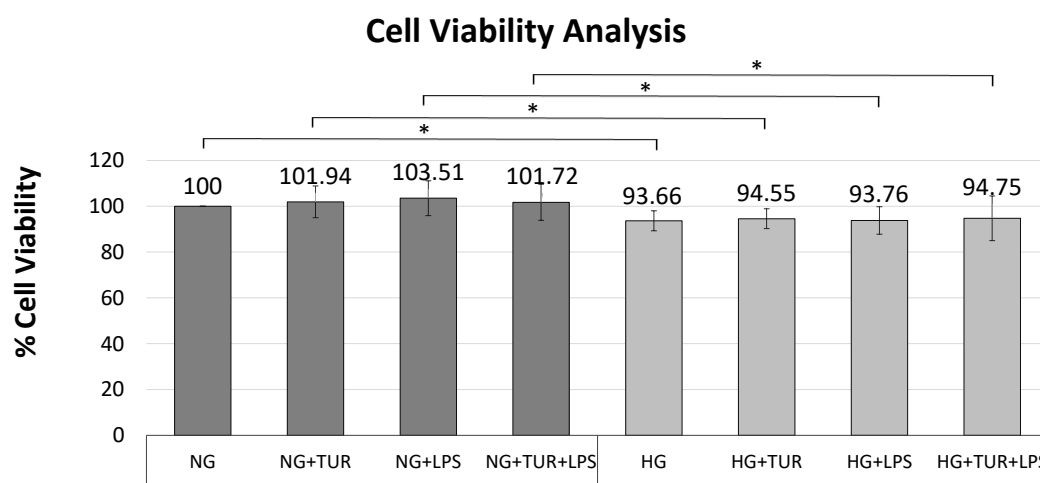
ผลการวิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดหยาบขมิ้นชันด้วย MTT assay



ภาพประกอบ 12 แสดงผลการวิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดหยาบขมิ้นชัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (*P-value < 0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากการวิเคราะห์การตอบสนองต่อสารสกัดหยาบขมิ้นชันโดยใช้เทคนิค MTT assay เมื่อเลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีสารสกัดหยาบขมิ้นชันความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ที่ 3.75, 7.5, 15, 30 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ตัวอย่างจากผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 3 คน ถูกทำการทดลองแยกกันคนละ 2 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งจะทำซ้ำ 3 หลุมต่อกลุ่มทดลอง) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ที่ 126.97±22.09, 133.32±34.04, 150.51±35.95, 148.43±42.92, 142.43±34.43 และ 100±0 ตามลำดับ (ภาพประกอบ 12) เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ แต่มีความแปรปรวนไม่เท่ากันระหว่างกลุ่ม จึงทำการทดสอบรายคู่ด้วย Dunn-Bonferroni test พบว่าความเข้มข้นของขมิ้นชันที่ 15 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ส่งผลเพิ่มความมีชีวิตของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับขมิ้น ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าขมิ้นชันขนาด 3.75 ถึง 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร สามารถเพิ่มร้อยละความมีชีวิตของเซลล์โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของขมิ้นชันที่สูงขึ้น โดยให้ค่าสูงสุดที่ความเข้มข้น 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร จากนั้นมีแนวโน้มลดลงเมื่อขนาดของขมิ้นชันสูงกว่า 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร จึงใช้ขมิ้นชันในขนาด 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เพื่อทำการทดลองต่อไป

ผลการวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ด้วย MTT assay

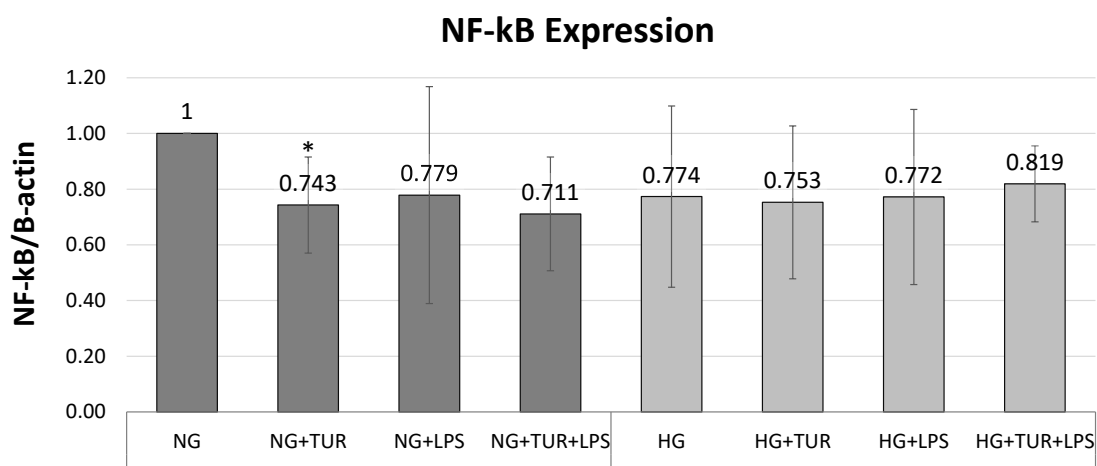


ภาพประกอบ 13 แสดงการวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ ที่ความเชื่อมั่น 95% (*P-value < 0.05)

จากการวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ด้วย MTT assay พบว่าเมื่อเลี้ยงเซลล์ภายใต้สภาวะน้ำตาลปกติ หรือระดับน้ำตาลสูง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นเปลี่ยนมาเลี้ยงเซลล์ในสารสกัดหยาบไขมันชั้นทั้งในสภาวะที่มีและไม่มี LPS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (เช่นเดียวกับการวิเคราะห์สารสื่อการอักเสบ) ซึ่งตัวอย่างของผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 3 คน จะถูกทำการทดลองแยกกัน 3 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งจะทำซ้ำ 3 หลุมในแต่ละกลุ่ม พบว่าในกลุ่มที่ 1-4 ซึ่งได้แก่ กลุ่มควบคุมภาวะปกติ (NG) กลุ่มน้ำตาลปกติที่ได้รับไขมันชั้น (NG+TUR) กลุ่มน้ำตาลปกติที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS (NG+LPS) และ กลุ่มน้ำตาลปกติที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ร่วมกับไขมันชั้น (NG+LPS+TUR) มีค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ตามลำดับดังนี้ 100 ± 0.0 , 101.94 ± 6.95 , 103.51 ± 7.61 และ 101.72 ± 7.87 ในขณะที่กลุ่มที่ 5-8 ซึ่งได้แก่ กลุ่มควบคุมภาวะน้ำตาลสูง (HG) กลุ่มน้ำตาลสูงที่ได้รับไขมันชั้น (HG+TUR) กลุ่มน้ำตาลสูงที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS (HG+LPS) และ กลุ่มน้ำตาลสูงที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ร่วมกับไขมันชั้น (HG+LPS+TUR) มีค่าเฉลี่ย 93.66±4.35, 94.55±4.33, 93.76±5.99 และ 94.75±9.76 ตามลำดับ (ภาพประกอบ 13)

จากการทดสอบทางสถิติพบว่าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ จึงทำการวิเคราะห์รายคู่ด้วย Paired T-test โดยพบว่าปัจจัยน้ำตาลสูงก่อให้เกิดการลดลงของร้อยละความมีชีวิตของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มน้ำตาลปกติและน้ำตาลสูงที่มีปัจจัยกระตุ้นเดียวกัน ในขณะที่เมื่อพิจารณาปัจจัยไขมันชั้นและ LPS พบว่าสามารถเพิ่มร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ได้เล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญ

ผลการวิเคราะห์การแสดงออกของ NF-kB ด้วย RT-PCR

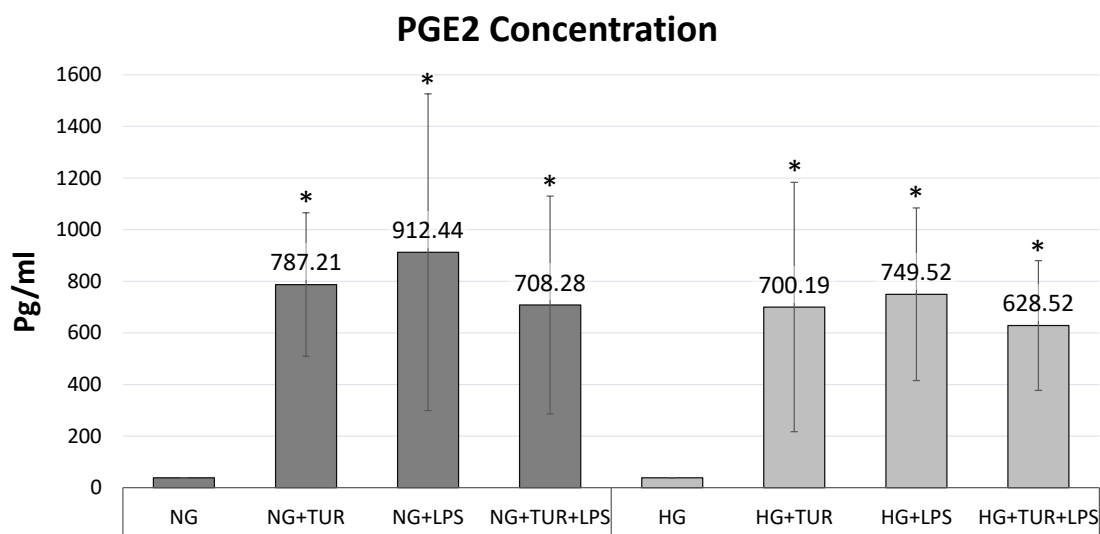


ภาพประกอบ 14 แสดงการวิเคราะห์การแสดงออกของ NF-kB ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
(*P-value < 0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมภาวะปกติ (NG)

จากการวิเคราะห์การแสดงออกของ NF-kB ด้วยเทคนิค Real-time PCR ซึ่งตัวอย่างจากผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 3 คน จะถูกทำการทดลองแยกกัน 2 ครั้ง โดย DNA ในแต่ละครั้งจะถูกทดสอบซ้ำ 3 หลุมในแต่ละกลุ่ม พบว่าในกลุ่มที่ 1-4 มีค่าเฉลี่ยจำนวนเท่าในการแสดงออกของยีนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมภาวะปกติ (NG) ตามลำดับดังนี้ 1 ± 0 , 0.743 ± 0.172 , 0.779 ± 0.390 และ 0.711 ± 0.204 ในขณะที่กลุ่มที่ 5-8 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.774 ± 0.325 , 0.753 ± 0.275 , 0.772 ± 0.314 และ 0.819 ± 0.136 ตามลำดับ (ภาพประกอบ 14)

เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าข้อมูลแต่ละกลุ่มมีการแจกแจงแบบปกติ จึงทำการวิเคราะห์รายคู่ด้วย Paired T-test พบว่ากลุ่มน้ำตาลปกติที่ได้รับมันชัน (NG+TUR) มีการลดลงของการแสดงออกของ NF-kB อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมภาวะปกติ โดยไม่พบนัยสำคัญเมื่อพิจารณาปัจจัยอื่น ๆ

ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PGE2 ด้วย ELISA



ภาพประกอบ 15 แสดงการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PGE2 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

(*P-value < 0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมภาวะปกติ (NG)

จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของ PGE2 ด้วย Competitive ELISA ซึ่งตัวอย่างจากผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 3 คน จะถูกทำการทดลองแยกกัน 2 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งจะถูกทดสอบซ้ำ 2 หลุมในแต่ละกลุ่ม พบว่าในกลุ่มที่ 1-4 มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ PGE2 (พิโกกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับดังนี้ <39, 787.21±277.87, 912.44±613.40 และ 708.28±421.82 ในกลุ่มที่ 5-8 มีค่า <39, 700.19±483.18, 749.52±334.46 และ 628.52±251.11 ตามลำดับ (ภาพประกอบ 15)

เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ จึงทำการวิเคราะห์รายคู่ด้วย Paired T-test ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากลุ่มควบคุมภาวะปกติ (NG) และกลุ่มควบคุมภาวะน้ำตาลสูง (HG) มีปริมาณ PGE2 น้อยจนไม่สามารถตรวจพบได้ในชุดสกัดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (<39 พิโกกรัมต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่ทั้งไขมันชั้นและ LPS สามารถกระตุ้นการหลั่งของ PGE2 ได้อย่างมีนัยสำคัญในระดับที่สูงกว่า 600 พิโกกรัมต่อมิลลิลิตร โดยแนวโน้มการหลั่ง PGE2 ในกลุ่มน้ำตาลปกติและน้ำตาลสูงมีลักษณะคล้ายคลึงกัน จึงไม่พบความแตกต่างเมื่อพิจารณาปัจจัยน้ำตาล

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยเรื่องการผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันต่อนิวเคลียร์แฟกเตอร์แคปบาบีและพรอสตาแกลนดินอี 2 ของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นด้วยไลโปโพลีแซคคาไรด์ในสภาวะน้ำตาลสูง ผู้วิจัยได้ทำการจำลองสภาวะเบาหวานและการติดเชื้อโรคปริทันต์ในเซลล์ จากนั้นได้ทำการศึกษาผลของขมิ้นชันต่อสภาวะดังกล่าว โดยสารอักเสบที่ถูกเลือกมาเพื่อประเมินการตอบสนองของเซลล์คือ NF-kB และ PGE2 หลังจากได้ผลการดำเนินงานแล้ว สามารถสรุปผลการดำเนินงาน โดยแบ่งหัวข้อในการสรุปผลได้ดังต่อไปนี้

1. อภิปรายผลการวิจัย
2. สรุปผลการวิจัย
3. ข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

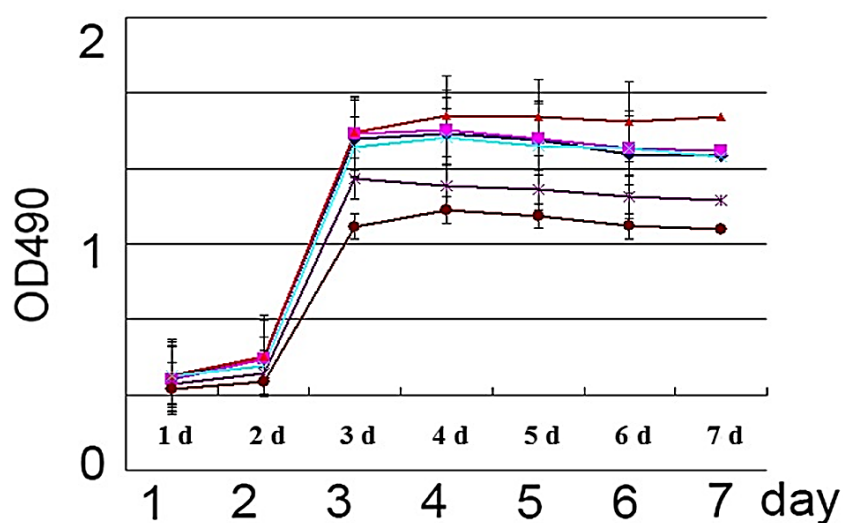
จากผลการวิเคราะห์การตอบสนองของเซลล์ต่อสารสกัดหยาบขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 0 ถึง 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดหยาบขมิ้นชันมีผลเพิ่มค่าความมีชีวิตของเซลล์ แสดงให้เห็นว่าไม่เป็นพิษต่อเซลล์ โดยให้ค่าสูงสุดเมื่อขมิ้นชันเข้มข้น 15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงใช้ความเข้มข้นนี้ในการทดลองต่อไป ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Lantz และคณะ⁽⁶⁷⁾ ซึ่งพบว่าที่ 24 ชั่วโมง สารสกัดหยาบขมิ้นชันไม่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวและไม่มีผลต่อกิจกรรมทางชีววิทยาของเซลล์ เมื่อความเข้มข้นน้อยกว่า 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแม้ว่าการศึกษาของเราจะไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์แม้ในขมิ้นชัน 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ก็พบว่าที่ความเข้มข้นของขมิ้นตั้งแต่ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป จะมีแนวโน้มที่ความมีชีวิตของเซลล์จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของขมิ้นสูงขึ้น จนทำให้ค่าความมีชีวิตของเซลล์สูงขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการวิเคราะห์ผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันต่อความมีชีวิตของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยภาวะน้ำตาลสูง 50 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นกระตุ้นการอักเสบด้วย LPS ของ *Pg* ร่วมกับการได้รับขมิ้นชันหรือไม่ได้รับขมิ้นชันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยการศึกษานี้มุ่งหวังที่จะจำลองภาวะการเลี้ยงเซลล์ให้ใกล้เคียงกับภาวะปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยเบาหวาน และพยายามหาผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันต่อสภาวะดังกล่าว ซึ่งพบว่าขมิ้นชันสามารถเพิ่มค่าความมีชีวิตของเซลล์ได้เล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าขมิ้นชันไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ในขณะที่ความมี

ชีวิตของเซลล์ในกลุ่มน้ำตาลสูงทั้งหมดลดลง โดยพบนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มน้ำตาลปกติกับกลุ่มน้ำตาลสูงที่ได้รับการกระตุ้นในภาวะเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าภาวะน้ำตาลสูงเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งพบว่าสอดคล้องกับการศึกษาของพริมาและคณะ⁽²⁵⁾ ที่พบว่าจำนวนเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อได้รับน้ำตาล 50 มิลลิโมลาร์ขึ้นไป เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเวลาน้อยกว่า 72 ชั่วโมงหรือที่ระดับน้ำตาลน้อยกว่า 50 มิลลิโมลาร์

อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อเซลล์ได้รับการกระตุ้นด้วยน้ำตาล 72 ชั่วโมง ก่อนเซลล์ได้รับ LPS/ไขมันชั้น อีก 24 ชั่วโมง พบว่าไขมันชั้นเพิ่มความมีชีวิตของเซลล์ได้ร้อยละ 1-2 ซึ่งแตกต่างจากการวิเคราะห์การตอบสนองของเซลล์ต่อสารสกัดหยาบไขมันชั้นที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าไขมันชั้นสามารถเพิ่มความมีชีวิตของเซลล์ได้ราวร้อยละ 50 โดยอาจเป็นผลเนื่องจากการความแตกต่างของระยะการเจริญเติบโตของเซลล์และความหนาแน่นของเซลล์ที่ไม่เท่ากัน โดยอ้างอิงการศึกษาของ Liu และคณะ⁽¹⁴⁵⁾ ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของเวลากับการเจริญเติบโต (Growth kinetics) ของเซลล์สร้างเส้นใยเหิงอกมนุษย์ ในรุ่นที่ 1-6 โดยใช้เทคนิค MTT โดยพบว่ากราฟการเจริญเติบโตประกอบไปด้วยระยะพักตัว (Incubation phase) ระยะแบ่งตัว (log phase) และระยะคงจำนวนเซลล์ (Stationary phase) โดยวันที่ 1-2 ของระยะพักตัว พบว่าเซลล์เพิ่มจำนวนอย่างช้า ๆ เนื่องจากอยู่ในช่วงปรับตัวกับภาวะแวดล้อมใหม่และมีการตายของเซลล์บางส่วน จากนั้นเซลล์ที่รอดชีวิตจะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในวันที่ 2 ถึง 3 และแบ่งตัวจนมีจำนวนสูงสุดในวันที่ 4 ระยะนี้เป็นระยะแบ่งตัว ซึ่งเซลล์เจริญเติบโตได้ดี ทำให้เหมาะสมต่อการศึกษามากที่สุด โดยเมื่อสิ้นสุดระยะนี้เซลล์จะเพิ่มจำนวนจนเต็มพื้นที่จานเลี้ยงเซลล์ จากนั้นเซลล์จะเริ่มน้อยลงในวันที่ 6 ซึ่งบ่งชี้ว่าเซลล์เข้าสู่ระยะคงจำนวนเซลล์ ซึ่งเป็นระยะที่เซลล์ลดกิจกรรมในเซลล์ลง และมีความสมดุลระหว่างการเจริญเติบโตและการตายของเซลล์ (ภาพประกอบ 16)

ในการศึกษาความมีชีวิตของเซลล์ของการศึกษานี้ใช้เวลา 24 ชั่วโมงเพื่อรอให้เซลล์เกาะกับจานเลี้ยงเซลล์ และเจริญเติบโตจนได้ความหนาแน่นร้อยละ 80 ของจานเลี้ยงเซลล์ จากนั้นกระตุ้นเซลล์ด้วยภาวะน้ำตาลสูงและ LPS/ไขมันชั้น รวม 96 ชั่วโมง แล้วทำการศึกษาผลในวันที่ 5 ซึ่งอาจเป็นช่วงที่เซลล์ใกล้เข้าสู่ระยะคงจำนวนเซลล์แล้ว อีกทั้งอยู่ในระยะที่เซลล์เจริญเติบโตจนเต็มพื้นที่ของจานเลี้ยงเซลล์ ซึ่งอาจส่งผลให้กิจกรรมในเซลล์ลดลง เป็นเหตุให้ผลการศึกษแตกต่างจากการศึกษาการตอบสนองของเซลล์ต่อสารสกัดหยาบไขมันชั้นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งใช้เวลาเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อให้เซลล์เจริญเติบโตจนได้ความหนาแน่นร้อยละ 80 จากนั้นกระตุ้นเซลล์ด้วยสารสกัดหยาบอีก 24 ชั่วโมง เป็นเวลารวม 2 วัน ซึ่งเป็นช่วงสิ้นสุดระยะพักตัวและกำลังเข้าสู่ระยะแบ่งตัว จำนวนเซลล์จึงหนาแน่นน้อยกว่าและมีกิจกรรมในเซลล์มากกว่าที่เวลา 5 วัน



ภาพประกอบ 16 กราฟความมีชีวิตของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์รุ่นที่ 1-6 ที่เวลาต่าง ๆ; — รุ่นที่ 1: — รุ่นที่ 2: — รุ่นที่ 3: — รุ่นที่ 4: — รุ่นที่ 5: — รุ่นที่ 6⁽¹⁴⁵⁾

จากการศึกษาความมีชีวิตของเซลล์ยังพบว่า LPS สามารถเพิ่มร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ได้เล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Huang และคณะ⁽¹⁴⁶⁾ ที่พบว่า LPS ของ *Pg* ที่ความเข้มข้น 0.5 ถึง 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเพิ่มร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ ในขณะที่ LPS ที่ความเข้มข้น 10 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลลดความมีชีวิตของเซลล์ที่เวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งคล้ายคลึงกับจากการศึกษาของ Bender และคณะ⁽¹⁴⁷⁾ ที่พบการเพิ่มขึ้นของร้อยละความมีชีวิตของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกมนุษย์ถูกกระตุ้นด้วย LPS ของ *Pg* เข้มข้น 1 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งการศึกษาดังกล่าวคาดว่า LPS อาจส่งผลเพิ่มกิจกรรมการเผาผลาญ (Metabolic activity) บางอย่างในเซลล์

เมื่อวิเคราะห์ผลของสารสกัดหยาบเข้มข้นต่อการแสดงออกของ NF- κ B พบว่าการแสดงออกของ NF- κ B ลดลงทุกกลุ่มทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมภาวะปกติ โดยพบว่ามีนัยสำคัญในกลุ่มน้ำตาลปกติที่ได้รับเข้มข้น การลดลงดังกล่าวเชื่อว่าเป็นผลมาจากความสามารถของเคอร์คิวมินในการรบกวนกลไกที่อยู่ในขั้นตอนก่อนการฟอสโฟไรเลชันของไอเคบีแอลฟา (Inhibitors of NF- κ B alpha: I κ B α) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ NF- κ B โดยมีหลายการศึกษาที่พบว่าเคอร์คิวมินสามารถยับยั้งการฟอสโฟไรเลชันและการสลายตัวของ I κ B α ส่งผลให้ I κ B α จับตัวอยู่พบ NF- κ B และทำให้ไม่เกิดการปลดปล่อย NF- κ B เข้าสู่นิวเคลียส⁽¹²¹⁾

การศึกษานี้ยังพบอีกว่าการแสดงออกของ NF-kB ลดลงทุกกลุ่มทดลอง ซึ่งอาจอธิบายได้โดยอ้างอิงจากการทดลองของ Hobbs และคณะ⁽¹⁴⁸⁾ ซึ่งใช้เซลล์แมคโครฟาจที่กระตุ้นด้วย LPS 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นติดตามการทำงานของ NF-kB ตั้งแต่ 15 นาทีถึง 72 ชั่วโมง พบว่าการฟอสโฟรีเลชันของ NF-kB เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่เวลา 45 นาที จากนั้นขึ้นสูงสุดในเวลา 2 ชั่วโมง และลดลงอยู่ในระดับปกติที่ 6 ชั่วโมง ในขณะที่การแสดงออกของ NF-kB ภายในนิวเคลียส เพิ่มขึ้นที่ 30 นาที และสูงสุดที่ 45 นาที จากนั้นกลับสู่ระดับปกติที่ 24 ชั่วโมง และเมื่อติดตามการทำงานของ IKBA ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ NF-kB พบว่าลดลงมากที่สุดในช่วง 45 นาที จากนั้นเพิ่มสูงสุดที่ 16 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลัง 24 ชั่วโมง อีกหนึ่งการศึกษาที่คล้ายคลึงกันคือการศึกษาของ Sharif และคณะ⁽¹⁴⁹⁾ ซึ่งใช้เซลล์แมคโครฟาจกระตุ้นด้วย LPS 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นติดตามโปรตีน NF-kB ในนิวเคลียส ที่ 0.5, 1, 2, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า LPS สามารถกระตุ้นการทำงานของ NF-kB ได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่ 30 นาทีเป็นต้นไป จนเริ่มลดลงที่ 12 ชั่วโมง และไม่สามารถตรวจพบได้ที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งการศึกษาทั้งสองแสดงให้เห็นว่า NF-kB มีบทบาทสำคัญในช่วงเริ่มต้นของการอักเสบ และมีบทบาทลดลงจนเข้าสู่สภาวะปกติที่ 24 ชั่วโมง โดยสัมพันธ์กับกลไกการย้อนกลับเชิงลบ (Negative feedback) เพื่อการต้านการอักเสบที่มากเกินไปของเซลล์ จึงอาจอนุมานได้ว่าช่วงเวลา 72 ชั่วโมงในการกระตุ้นเซลล์ด้วยน้ำตาล รวมกับ 24 ชั่วโมงในการกระตุ้น LPS/ไขมันชั้นในการศึกษานี้ อาจเข้าสู่สภาวะที่การกระตุ้นการอักเสบของยีน NF-kB สิ้นสุดลงแล้ว

เมื่อวิเคราะห์ผลของสารสกัดหยาบขมิ้นชันต่อ PGE2 พบว่าขมิ้นชันและ LPS ส่งผลเพิ่ม PGE2 อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดย LPS กระตุ้นการเพิ่มขึ้นของ PGE2 ได้มากกว่าขมิ้นชัน อย่างไรก็ตามเมื่อเซลล์ได้รับการกระตุ้นด้วย LPS ร่วมกับขมิ้นชันจะส่งผลให้ระดับ PGE2 ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการกระตุ้นด้วย LPS เพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าขมิ้นชันอาจสามารถส่งผลการหลังของ PGE2 แต่ก็สามารถลดการอักเสบที่เกิดจาก LPS ได้เช่นกัน ซึ่งผลการทดลองนี้อาจเกิดจากความหลากหลายของฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดหยาบที่ประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายชนิด เช่น เคอร์คิวมิน (Curcumin) เคอร์คิวมินอยด์ (Curcuminoid) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และน้ำมันหอมระเหย (Essential oil)⁽⁷⁰⁾ ที่มีอัตราส่วนแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของขมิ้น ฤดูกาลเพาะปลูก และกระบวนการสกัด เป็นต้น อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้ต่างจากผลการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Lantz และคณะ⁽⁶⁷⁾ ที่พบว่าสารสกัดหยาบขมิ้นชันเข้มข้น 0.92 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการหลัง PGE2 ใน

เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ลงร้อยละ 50 (IC50) จึงควรต้องมีการศึกษาเพื่อยืนยันผลต่อไป

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดหยาบขมิ้นชันสามารถเพิ่มความมีชีวิตของเซลล์และสามารถลดการแสดงออกของ NF- κ B ได้ในสภาวะน้ำตาลปกติ อย่างไรก็ตามขมิ้นชันสามารถเพิ่มการสังเคราะห์ PGE2 ได้

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาเพื่อทดสอบช่วงเวลาและความเข้มข้นที่เหมาะสมของทุกปัจจัยที่ใช้กระตุ้นเซลล์ และมีการประเมินช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์สารสื่ออักเสบที่สนใจ



บรรณานุกรม

1. Ravindran PN, Babu KN, Sivaraman K. Turmeric: the genus Curcuma: CRC press; 2007.
2. Asghari G, Mostajeran A, Shebli M. Curcuminoid and essential oil components of turmeric at different stages of growth cultivated in Iran. Research in pharmaceutical Sciences. 2010;4(1):55-61.
3. Hilchie AL, Furlong SJ, Sutton K, Richardson A, Robichaud MR, Giacomantonio CA, et al. Curcumin-induced apoptosis in PC3 prostate carcinoma cells is caspase-independent and involves cellular ceramide accumulation and damage to mitochondria. Nutrition and cancer. 2010;62(3):379-89.
4. Pizzorno JE, Murray MT. Textbook of Natural Medicine-E-Book: Elsevier Health Sciences; 2012.
5. Bhowmik D, Kumar K, Chandira M, Jayakar B. Turmeric: A Herbal and Traditional Medicine. Arch Appl Sci Res. 2008;1.
6. Gupta SC, Sung B, Kim JH, Prasad S, Li S, Aggarwal BB. Multitargeting by turmeric, the golden spice: From kitchen to clinic. Molecular nutrition & food research. 2013;57(9):1510-28.
7. Anand P, Sundaram C, Jhurani S, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin and cancer: an “old-age” disease with an “age-old” solution. Cancer letters. 2008;267(1):133-64.
8. Kunnumakkara AB, Anand P, Aggarwal BB. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. Cancer letters. 2008;269(2):199-225.
9. Aggarwal BB, Deb L, Prasad S. Curcumin differs from tetrahydrocurcumin for molecular targets, signaling pathways and cellular responses. Molecules. 2015;20(1):185-205.
10. Kunnumakkara AB, Bordoloi D, Padmavathi G, Monisha J, Roy NK, Prasad S, et al. Curcumin, the golden nutraceutical: multitargeting for multiple chronic diseases. British

journal of pharmacology. 2017;174(11):1325-48.

11. Ghazanfari Z, Haghdoost AA, Alizadeh SM, Atapour J, Zolala F. A comparison of HbA1c and fasting blood sugar tests in general population. International journal of preventive medicine. 2010;1(3):187.
12. สมลักษณ์ จิ่งสมาน. โรคเบาหวานชนิดที่ 2/เมแทบอลิซึม = Type 2 diabetes/metabolism. นครนายก สาขาวิชาต่อมไร้ท่อและเมตะบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ; 2560.
13. Suryavanshi SV, Kulkarni YA. NF- κ B: a potential target in the management of vascular complications of diabetes. Frontiers in pharmacology. 2017;8:798.
14. Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. Diabetologia. 2012;55(1):21-31.
15. Savarrio L, Donati M, Carr C, Kinane D, Berglundh T. Interleukin-24, RANTES and CCR5 gene polymorphisms are not associated with chronic adult periodontitis. Journal of periodontal research. 2007;42(2):152-8.
16. Gemmell E, Carter C, Seymour G. Chemokines in human periodontal disease tissues. Clinical & Experimental Immunology. 2001;125(1):134-41.
17. Gamonal J, Bascones A, Jorge O, Silva A. Chemokine RANTES in gingival crevicular fluid of adult patients with periodontitis. Journal of clinical periodontology. 2000;27(9):675-81.
18. Madonna G, Ullman CD, Gentilcore G, Palmieri G, Ascierto PA. NF- κ B as potential target in the treatment of melanoma. Journal of translational medicine. 2012;10(1):53.
19. Bhukya PL, Laxmivandana R, Sundaram GM. NF- κ B Role and Potential Drug Targets in Gastrointestinal Cancer. Role of Transcription Factors in Gastrointestinal Malignancies: Springer; 2017. p. 45-71.
20. Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. science. 2001;294(5548):1871-5.
21. Noguchi K, Ishikawa I. The roles of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in periodontal disease. Periodontology 2000. 2007;43(1):85-101.
22. Kitamura H, Urano H, Ara T. Preventive Effects of a Kampo Medicine, Kakkonto, on

Inflammatory Responses via the Suppression of Extracellular Signal-Regulated Kinase Phosphorylation in Lipopolysaccharide-Treated Human Gingival Fibroblasts. *ISRN pharmacology*. 2014;2014:784019.

23. Hu P, Huang P, Chen MW. Curcumin attenuates cyclooxygenase-2 expression via inhibition of the NF- κ B pathway in lipopolysaccharide-stimulated human gingival fibroblasts. *Cell biology international*. 2013;37(5):443-8.

24. Lalla E, Papapanou PN. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nature Reviews Endocrinology*. 2011;7(12):738-48.

25. Buranasin P, Mizutani K, Iwasaki K, Mahasarakham CPN, Kido D, Takeda K, et al. High glucose-induced oxidative stress impairs proliferation and migration of human gingival fibroblasts. *PloS one*. 2018;13(8).

26. Borgnakke WS, Ylostalo PV, Taylor GW, Genco RJ. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. *Journal of Periodontology*. 2013;84(4S):S135-S52.

27. Chung J-H, Kwon Y-H, Lee M-S, Park J-B, Herr Y, Kim S-J. Effect of high glucose on the prostaglandin E2 production in human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells. *The Journal of the Korean Academy of Periodontology*. 1997;27(4):909-22.

28. Lew JH, Naruishi K, Kajiura Y, Nishikawa Y, Ikuta T, Kido J, et al. High Glucose-Mediated Cytokine Regulation in Gingival Fibroblasts and THP-1 Macrophage: a Possible Mechanism of Severe Periodontitis with Diabetes. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018;50(3):973-86.

29. Shaker O, Ghallab NA, Hamdy E, Sayed S. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in gingival tissues of chronic periodontitis with and without diabetes: immunohistochemistry and RT-PCR study. *Archives of oral biology*. 2013;58(10):1397-406.

30. Yu S, Li H, Ma Y, Fu Y. Matrix Metalloproteinase-1 of Gingival Fibroblasts Influenced by Advanced Glycation End Products (AGEs) and Their Association With Receptor for AGEs and Nuclear Factor- κ B in Gingival Connective Tissue. *Journal of Periodontology*. 2012;83(1):119-26.

31. Salvi GE, Beck JD, Offenbacher S. PGE2, IL-1 β , and TNF- α Responses in

Diabetics as Modifiers of Periodontal Disease Expression. *Annals of Periodontology*. 1998;3(1):40-50.

32. Gabarrini G, Heida R, van Ieperen N, Curtis MA, van Winkelhoff AJ, van Dijk JM. Dropping anchor: attachment of peptidylarginine deiminase via A-LPS to secreted outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis*. *Scientific reports*. 2018;8(1):1-9.
33. Cheng R, Liu W, Zhang R, Feng Y, Bhowmick NA, Hu T. *Porphyromonas gingivalis*-derived lipopolysaccharide combines hypoxia to induce caspase-1 activation in periodontitis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017;7:474.
34. Nichols TC, Fischer TH, Deligdisis EN, Baldwin Jr AS. Role of nuclear factor- κ B (NF- κ B) in inflammation, periodontitis, and atherogenesis. *Annals of Periodontology*. 2001;6(1):20-9.
35. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, Makihiro S, Seki M, Karim N, et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *The American journal of pathology*. 2006;169(3):987-98.
36. Deo V, Bhongade M. Pathogenesis of periodontitis: role of cytokines in host response. *Dentistry today*. 2010;29(9):60-2, 4-6; quiz 8-9.
37. Seetharaman B, Bhageerathy C. Toxicity prediction of compounds from turmeric (*Curcuma longa* L). *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2010;48:2951-9.
38. Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*. 2014;19(12):20091-112.
39. Ambili R, Santhi WS, Janam P, Nandakumar K, Pillai MR. Expression of activated transcription factor nuclear factor- κ B in periodontally diseased tissues. *J Periodontol*. 2005;76(7):1148-53.
40. Brasier AR. The NF- κ B regulatory network. *Cardiovascular Toxicology*. 2006;6(2):111-30.
41. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun S-C. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*. 2017;2:17023.
42. Nakanishi M, Rosenberg DW. Multifaceted roles of PGE2 in inflammation and

cancer. *Semin Immunopathol.* 2013;35(2):123-37.

43. Babaev VR, Chew JD, Ding L, Davis S, Breyer MD, Breyer RM, et al. Macrophage EP4 deficiency increases apoptosis and suppresses early atherosclerosis. *Cell metabolism.* 2008;8(6):492-501.

44. Brahmachari G. *Chemistry and Pharmacology of Naturally Occurring Bioactive Compounds*: Taylor & Francis; 2013.

45. Du GH. *Natural Small Molecule Drugs from Plants*: Springer Singapore; 2018.

46. Nisar T, Iqbal M, Raza A, Safdar M, Iftikhar F, Waheed M. Turmeric: A promising spice for phytochemical and antimicrobial activities. *Am Eurasian J Agric Environ Sci.* 2015;15:1278-88.

47. Lawrence GHM. *Taxonomy of vascular plants*: Scientific Publishers; 2017.

48. Hanif R, Qiao L, Shiff SJ, Rigas B. Curcumin, a natural plant phenolic food additive, inhibits cell proliferation and induces cell cycle changes in colon adenocarcinoma cell lines by a prostaglandin-independent pathway. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 1997;130(6):576-84.

49. Nair KP. *Turmeric (Curcuma Longa L.) and Ginger (Zingiber Officinale Rosc.)-World's Invaluable Medicinal Spices: The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger*: Springer Nature; 2019.

50. The Editors of Encyclopaedia Britannica. *Turmeric*. *Encyclopædia Britannica*: Encyclopædia Britannica, inc.; 2020.

51. Nutrition value. Spices, ground, turmeric [cited 2020 FEB 2]. Available from: https://www.nutritionvalue.org/Spices%2C_ground%2C_turmeric_nutritional_value.html.

52. U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Spices, turmeric, ground, : USDA National Nutrient data base; 2019 [cited 2020 FEB 2]. Available from: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/172231/nutrients>.

53. Assessment report on *Curcuma longa* L., rhizoma [Internet]. 2018 [cited 20 APR 2020]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-curcuma-longa-l-rhizoma-revision-1_en.pdf.

54. Saitawee D, Teerakapong A, Morales NP, Jitprasertwong P, Hormdee D.

Photodynamic therapy of *Curcuma longa* extract stimulated with blue light against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Photodiagnosis and photodynamic therapy. 2018;22:101-5.

55. Volak LP, Ghirmai S, Cashman JR. Curcuminoids inhibit multiple human cytochromes P450, UDP-glucuronosyltransferase, and sulfotransferase enzymes, whereas piperine is a relatively selective CYP3A4 inhibitor. Drug Metabolism and Disposition. 2008;36(8):1594-605.

56. Marongiu B, Porcedda S, Caredda A, De Gioannis B, Piras A. Supercritical CO₂ extraction of curcumin and essential oil from the rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* L.). 2002.

57. Dosoky N, Setzer W. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Curcuma* species. Nutrients. 2018;10(9):1196.

58. Prucksunand C, Indrasukhsri B, Leethochawalit M, Nilvises N, Prijavudhi A, Wimolwattanapun S. Effect of the long turmeric (*Curcuma Longa* Linn) on healing of peptic ulcer: A preliminary report of 10 cases study. Thai journal of pharmacology. 1986;8(3):139-51.

59. คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2561. In: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กองควบคุมยา กระทรวงสาธารณสุข, editor. 2561.

60. Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of *Curcuma longa*. Planta medica. 1991;57(01):1-7.

61. Mukerji B, Saidi S, Singh G. Spices and gastric function. 1. Effect of *Curcuma longa* on the gastric secretion in rabbits. Journal of scientific and industrial research. 1961:25-8.

62. Kitsupa N. Gastroprotective effect of turmeric oil: Chulalongkorn University; 2002.

63. Pannangpetch P, Watanathorn J, Phasuriwong O, Tassaneeyakul W, Kongyingyoes B. Antigastric Ulcer Effect of Turmeric in Rats. Srinagarind Medical Journal. 2000;15(4):250-4.

64. Xiao C-J, Yu X-J, Xie J-L, Liu S, Li S. Protective effect and related mechanisms of curcumin in rat experimental periodontitis. Head & face medicine. 2018;14(1):1-8.

65. Pimentel SP, Casati MZ, Ribeiro FV, Corrêa MG, Franck FC, Benatti BB, et al. Impact of natural curcumin on the progression of experimental periodontitis in diabetic rats. *Journal of Periodontal Research*. 2020;55(1):41-50.
66. Park C, Moon D-O, Choi I-W, Choi B, Nam T-J, Rhu C-H, et al. Curcumin induces apoptosis and inhibits prostaglandin E(2) production in synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis. *International journal of molecular medicine*. 2007;20:365-72.
67. Lantz RC, Chen G, Solyom A, Jolad S, Timmermann B. The effect of turmeric extracts on inflammatory mediator production. *Phytomedicine*. 2005;12(6-7):445-52.
68. Rungseesantivanon S. Effect of curcumin on diabetes-induced endothelial dysfunction in rat: role of PKC, COX-2 and NF-kB: Chulalongkorn University; 2009.
69. Ravishankar PL, Kumar YP, Anila EN, Chakraborty P, Malakar M, Mahalakshmi R. Effect of local application of curcumin and ornidazole gel in chronic periodontitis patients. *Int J Pharm Investig*. 2017;7(4):188-92.
70. Bengmark S. Curcumin, An Atoxic Antioxidant and Natural NFkB, Cyclooxygenase-2, Lipooxygenase, and Inducible Nitric Oxide Synthase Inhibitor: A Shield Against Acute and Chronic Diseases. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2006;30(1):45-51.
71. Gupta SK, Kumar B, Nag TC, Agrawal SS, Agrawal R, Agrawal P, et al. Curcumin prevents experimental diabetic retinopathy in rats through its hypoglycemic, antioxidant, and anti-inflammatory mechanisms. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 2011;27(2):123-30.
72. Motterlini R, Foresti R, Bassi R, Green CJ. Curcumin, an antioxidant and anti-inflammatory agent, induces heme oxygenase-1 and protects endothelial cells against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000;28(8):1303-12.
73. Shahzad M, Sherry L, Rajendran R, Edwards CA, Combet E, Ramage G. Utilising polyphenols for the clinical management of *Candida albicans* biofilms. *International journal of antimicrobial agents*. 2014;44(3):269-73.
74. Shahzad M, Millhouse E, Culshaw S, Edwards CA, Ramage G, Combet E. Selected dietary (poly) phenols inhibit periodontal pathogen growth and biofilm formation. *Food &*

function. 2015;6(3):719-29.

75. Kumar A, Dhamgaye S, Maurya IK, Singh A, Sharma M, Prasad R. Curcumin targets cell wall integrity via calcineurin-mediated signaling in *Candida albicans*. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2014;58(1):167-75.

76. Izui S, Sekine S, Maeda K, Kuboniwa M, Takada A, Amano A, et al. Antibacterial activity of curcumin against periodontopathic bacteria. Journal of periodontology. 2016;87(1):83-90.

77. Muhammad A-AMK, Majeve OV. Periodontitis and Diabetes Mellitus 2007.

78. Mealey B, Rees T, Rose L, Grossi S. Systemic factors impacting the periodontium. Periodontics medicine, surgery, and implants St Louis: Elsevier Mosby. 2004.

79. Nathan DM, Zinman B, Cleary PA, Backlund J-YC, Genuth S, Miller R, et al. Modern-day clinical course of type 1 diabetes mellitus after 30 years' duration: the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications and Pittsburgh epidemiology of diabetes complications experience (1983-2005). Archives of internal medicine. 2009;169(14):1307.

80. Al-Maskari AY, Al-Maskari MY, Al-Sudairy S. Oral manifestations and complications of diabetes mellitus: a review. Sultan Qaboos University Medical Journal. 2011;11(2):179.

81. Devendra D, Liu E, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: recent developments. Bmj. 2004;328(7442):750-4.

82. Mealey BL, Ocampo GL. Diabetes mellitus and periodontal disease. Periodontology 2000. 2007;44(1):127-53.

83. Tsalamandris S, Antonopoulos AS, Oikonomou E, Papamikroulis G-A, Vogiatzi G, Papaioannou S, et al. The Role of Inflammation in Diabetes: Current Concepts and Future Perspectives. Eur Cardiol. 2019;14(1):50-9.

84. Feuerer M, Shen Y, Littman DR, Benoist C, Mathis D. How punctual ablation of regulatory T cells unleashes an autoimmune lesion within the pancreatic islets. Immunity. 2009;31(4):654-64.

85. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. Nature Reviews Immunology. 2011;11(2):98-107.

86. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(7):1793-801.
87. สำนักโรคไม่ติดต่อ. จำนวนและอัตราผู้ป่วยใน ปี 2559 - 2561 (ความดันโลหิตสูง, เบาหวาน, หลอดเลือดหัวใจ, หลอดเลือดสมอง, COPD). In: กองยุทธศาสตร์และแผนงานสำนักปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข, editor. 2562.
88. สำนักโรคไม่ติดต่อ. จำนวนและอัตราตายโรคไม่ติดต่อ ปี 2559 - 2561 (รวม 4 โรค, ความดันโลหิตสูง, เบาหวาน, หัวใจขาดเลือด, หลอดเลือดสมอง, หลอดลมอักเสบ ถุงลมโป่งพอง). In: กองยุทธศาสตร์และแผนงานสำนักปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข, editor. 2562.
89. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice*. 2019;157:107843.
90. Llambés F, Arias-Herrera S, Caffesse R. Relationship between diabetes and periodontal infection. *World J Diabetes*. 2015;6(7):927-35.
91. Loe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man: rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *Journal of clinical periodontology*. 1986;13(5):431-40.
92. Båge T, Kats A, Lopez BS, Morgan G, Nilsson G, Burt I, et al. Expression of Prostaglandin E Synthases in Periodontitis: Immunolocalization and Cellular Regulation. *The American journal of pathology*. 2011;178(4):1676-88.
93. Kelly M. Adult dental health survey. Oral health in the United Kingdom 1998. 2000.
94. Fox C. New considerations in the prevalence of periodontal disease. *Current opinion in dentistry*. 1992;2:5-11.
95. Listgarten M, Schifter C, Laster L. 3-year longitudinal study of the periodontal status of an adult population with gingivitis. *Journal of clinical periodontology*. 1985;12(3):225-38.
96. Suzuki N, Yoneda M, Hirofuji T. Mixed red-complex bacterial infection in periodontitis. *Int J Dent*. 2013;2013:587279-.
97. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune

- response to periodontitis. *International Journal of Oral Science*. 2019;11(3):30.
98. Brownlee M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annu Rev Med*. 1994;154:2473-9.
 99. Fu M-X, Wells-Knecht KJ, Blackledge JA, Lyons TJ, Thorpe SR, Baynes JW. Glycation, glycooxidation, and cross-linking of collagen by glucose: kinetics, mechanisms, and inhibition of late stages of the Maillard reaction. *Diabetes*. 1994;43(5):676-83.
 100. Van Putte L, De Schrijver S, Moortgat P. The effects of advanced glycation end products (AGEs) on dermal wound healing and scar formation: a systematic review. *Scars Burn Heal*. 2016;2:2059513116676828-.
 101. Gkogkolou P, Böhm M. Advanced glycation end products: Key players in skin aging? *Dermatoendocrinol*. 2012;4(3):259-70.
 102. Gkogkolou P, Böhm M. Advanced glycation end products (AGEs): Emerging mediators of skin aging. *microscopy*. 2015;7(8):9-10.
 103. Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K-i, Kitazawa R, et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(6):1494-505.
 104. Chan P-C, Liao M-T, Hsieh P-S. The Dualistic Effect of COX-2-Mediated Signaling in Obesity and Insulin Resistance. *Int J Mol Sci*. 2019;20(13):3115.
 105. Osborn O, Gram H, Zorrilla EP, Conti B, Bartfai T. Insights into the roles of the inflammatory mediators IL-1, IL-18 and PGE2 in obesity and insulin resistance. *Swiss Medical Weekly: official journal of the Swiss Society of Infectious Diseases, the Swiss Society of Internal Medicine, the Swiss Society of Pneumology*. 2008;138(45-46):665-73.
 106. Wu Y-Y, Xiao E, Graves DT. Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease. *International Journal of Oral Science*. 2015;7(2):63-72.
 107. Tunes RS, Foss-Freitas MC, Nogueira-Filho GdR. Impact of periodontitis on the diabetes-related inflammatory status. *J Can Dent Assoc*. 2010;76(35):1-7.
 108. Oppermann RV. An overview of the epidemiology of periodontal diseases in Latin America. *Brazilian Oral Research*. 2007;21(SPE):8-15.
 109. Engebretson S, Kocher T. Evidence that periodontal treatment improves diabetes

outcomes: a Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of periodontology*. 2013;84:S153-69.

110. Khader YS, Dauod AS, El-Qaderi SS, Alkafajei A, Batayha WQ. Periodontal status of diabetics compared with nondiabetics: a meta-analysis. *Journal of diabetes and its complications*. 2006;20(1):59-68.
111. Nelson RG, Shlossman M, Budding LM, Pettitt DJ, Saad MF, Genco RJ, et al. Periodontal disease and NIDDM in Pima Indians. *Diabetes care*. 1990;13(8):836-40.
112. Saremi A, Nelson RG, Tulloch-Reid M, Hanson RL, Sievers ML, Taylor GW, et al. Periodontal disease and mortality in type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2005;28(1):27-32.
113. Hayden MS, Ghosh S. NF-**KB** in immunobiology. *Cell research*. 2011;21(2):223-44.
114. Karin M, Lin A. NF-**KB** at the crossroads of life and death. *Nature immunology*. 2002;3(3):221-7.
115. Luo J-L, Kamata H, Karin M. IKK/NF-kappaB signaling: balancing life and death--a new approach to cancer therapy. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(10):2625-32.
116. Multhoff G, Pockley AG, Gaipf US, Rödel F. Radiation-induced effects and the immune system: *Frontiers E-books*.
117. Sarkar D, Fisher PB. *Advances in Cancer Research: AEG-1/MTDH/Lyric Implicated in Multiple Human Cancers*: Elsevier Science; 2013.
118. Karunaweera N, Raju R, Gyengési E, Muench G. Plant polyphenols as inhibitors of NF- κ B induced cytokine production--a potential anti-inflammatory treatment for Alzheimer's disease? *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2015;1:16-24.
119. Madambath I, Appu A. Role of NF-kappa B (NF-**KB**) in diabetes. *Forum on Immunopathological Diseases and Therapeutics*. 2013;4:111-32.
120. Kawai T, Akira S. Signaling to NF-**KB** by Toll-like receptors. *Trends in molecular medicine*. 2007;13(11):460-9.
121. Kasinski AL, Du Y, Thomas SL, Zhao J, Sun S-Y, Khuri FR, et al. Inhibition of IkappaB kinase-nuclear factor-kappaB signaling pathway by 3,5-bis (2-fluorobenzylidene) piperidin-4-one (EF24), a novel monoketone analog of curcumin. *Mol Pharmacol*.

2008;74(3):654-61.

122. Singh S, Aggarwal BB. Activation of transcription factor NF-**KB** is suppressed by curcumin (diferuloylmethane). *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270(42):24995-5000.
123. Jobin C, Bradham CA, Russo MP, Juma B, Narula AS, Brenner DA, et al. Curcumin blocks cytokine-mediated NF-**KB** activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I-**KB** kinase activity. *The Journal of Immunology*. 1999;163(6):3474-83.
124. Yucel-Lindberg T, Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert reviews in molecular medicine*. 2013;15.
125. Chatzipanteli K, Rudolph S, Axelrod L. Coordinate control of lipolysis by prostaglandin E2 and prostacyclin in rat adipose tissue. *Diabetes*. 1992;41(8):927-35.
126. Attiq A, Jalil J, Husain K, Ahmad W. Raging the War Against Inflammation With Natural Products. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9.
127. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2011;31(5):986-1000.
128. Zidar N, Odar K, Glavac D, Jerse M, Zupanc T, Stajer D. Cyclooxygenase in normal human tissues--is COX-1 really a constitutive isoform, and COX-2 an inducible isoform? *J Cell Mol Med*. 2009;13(9B):3753-63.
129. Boyce BF, Xiu Y, Li J, Xing L, Yao Z. NF-**KB**-Mediated Regulation of Osteoclastogenesis. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2015;30(1):35-44.
130. Langenbach R, Loftin C, Lee C, Tiano H. Cyclooxygenase knockout mice: models for elucidating isoform-specific functions. *Biochemical pharmacology*. 1999;58(8):1237-46.
131. Cosentino F, Eto M, Paolis PD, Loo Bvd, Bachschmid M, Ullrich V, et al. High Glucose Causes Upregulation of Cyclooxygenase-2 and Alters Prostanoid Profile in Human Endothelial Cells. *Circulation*. 2003;107(7):1017-23.
132. Koeberle A, Northoff H, Werz O. Curcumin blocks prostaglandin E2 biosynthesis through direct inhibition of the microsomal prostaglandin E2 synthase-1. *Molecular cancer therapeutics*. 2009;8(8):2348-55.
133. Sukatta U, Rugthaworn P, Pitpiangchan P, Dilokkunanant U. Development of

mangosteen anti-acne gel. Kasetart J(Nat Sci). 2008;42:163-8.

134. Zhuang Z, Yu D, Chen Z, Liu D, Yuan G, Yirong N, et al. Curcumin Inhibits Joint Contracture through PTEN Demethylation and Targeting PI3K/Akt/mTOR Pathway in Myofibroblasts from Human Joint Capsule. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2019;2019.

135. Calixto V, Benjamin H, Shital P. Effect of creatine and turmeric on muscle and non-muscle cells. J Appl Biotechnol Bioeng. 2019;6(4):160-9.

136. ดุษฎี หอมดี. บทนำสู่การเพาะเลี้ยงเซลล์ในช่องปาก : เซลล์ไฟโบรบลาสต์เหงือกมนุษย์ = Introduction to Oral Cell Culture : Human Gingival Fibroblasts 1, editor. ขอนแก่น: ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2561. 133 p.

137. Li X, Hu P, He X, Lu T, Guan W, Ma Y. Attempt at conserving the genetic resources of Hu sheep by fibroblast line cryopreservation. Journal of Applied Animal Research. 2014;42(3):352-5.

138. Srichan R, Korsuwannawong S, Mala S. Evaluation of the proliferative and cell migration effect of Clinacanthus nutans powder on human gingival fibroblast cell line. Mahidol Dent J. 2015;35:295-305.

139. Emmadi P, Ambalavanan N, Ramakrishnan T, Vijayalakshmi R. Effect of three commercial mouth rinses on cultured human gingival fibroblast: an in vitro study. Indian Journal of Dental Research. 2008;19(1):29.

140. Lee S-M, Chiang S-H, Wang H-Y, Wu P-S, Lin C-C. Curcumin enhances the production of major structural components of elastic fibers, elastin, and fibrillin-1, in normal human fibroblast cells. Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 2015;79(2):247-52.

141. Xiong G, Ji W, Wang F, Zhang F, Xue P, Cheng M, et al. Quercetin Inhibits Inflammatory Response Induced by LPS from Porphyromonas gingivalis in Human Gingival Fibroblasts via Suppressing NF- κ B Signaling Pathway. Biomed Res Int. 2019;2019.

142. Cree IA. Cancer cell culture: methods and protocols: Springer; 2011.

143. O'Connell M, Belanger B, Haaland P. Calibration and assay development using the four-parameter logistic model. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. 1993;20(2):97-114.

144. Arancibia R, Maturana C, Silva D, Tobar N, Tapia C, Salazar JC, et al. Effects of chitosan particles in periodontal pathogens and gingival fibroblasts. *J Dent Res*. 2013;92(8):740-5.
145. Liu X, Wang J, Dong F, Li H, Hou Y. Human gingival fibroblasts induced and differentiated into vascular endothelial-like cells. *Development, growth & differentiation*. 2016;58(9):702-13.
146. Huang J, Xiong T, Zhang Z, Tan Y, Guo L. Inhibition of the receptor for advanced glycation inhibits lipopolysaccharide-mediated High mobility group protein B1 and Interleukin-6 synthesis in human gingival fibroblasts through the NF- κ B signaling pathway. *Arch Oral Biol*. 2019;105:81-7.
147. Bender O, Weinberg E, Moses O, Nemcovsky CE, Weinreb M. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide and glycated serum albumin increase the production of several pro-inflammatory molecules in human gingival fibroblasts via NF κ B. *Arch Oral Biol*. 2020;116:104766.
148. Hobbs S, Reynoso M, Geddis AV, Mitrophanov AY, Matheny RW, Jr. LPS-stimulated NF- κ B p65 dynamic response marks the initiation of TNF expression and transition to IL-10 expression in RAW 264.7 macrophages. *Physiol Rep*. 2018;6(21):e13914.
149. Sharif O, Bolshakov VN, Raines S, Newham P, Perkins ND. Transcriptional profiling of the LPS induced NF- κ B response in macrophages. *BMC Immunology*. 2007;8(1):1.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	สุทธิธ ญาณรังสี
วัน เดือน ปี เกิด	15 เมษายน 2532
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2556 ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ที่อยู่ปัจจุบัน	40 ถนน สุขุมวิท 3 แขวง ห้วยหมาก อำเภอบางกะปิ จังหวัด กรุงเทพมหานคร 10240

